ETAT DES CONNAISSANCES SUR LE DEVENIR DES GERMES PATHOGENES ET DES MICROPOLLUANTS AU COURS DE LA METHANISATION DES DECHETS ET SOUS-PRODUITS ORGANIQUES.

FATE OF PATHOGENS AND MICROPOLLUTANTS DURING ORGANIC WASTES AND BY-PRODUCTS ANAEROBIC DIGESTION – A REVIEW.

PROGRAMME ADEME

Responsable ADEME :

- Frédéric DOR

Travail effectué avec la collaboration de :

- **l'Agence Régionale de Mécanisation (ARM) ;**
- **l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (ENVT) ;**
- **l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse (ENSAT).**

Auteurs :

- Christian COUTURIER, Laurent GALTIER (SOLAGRO)

Avec la participation de :

- Philippe POUECH (ARM) ;
- Hubert BRUGERE, Laurent MARACHE (ENVT) ;
- Michel KAEMMERER (ENSAT).

ETAT DES CONNAISSANCES SUR LE DEVENIR DES GERMES PATHOGENES ET DES MICROPOLLUANTS AU COURS DE LA METHANISATION DES DECHETS ET SOUS-PRODUITS ORGANIQUES.

FATE OF PATHOGENS AND MICROPOLLUTANTS DURING ORGANIC WASTES AND BY-PRODUCTS ANAEROBIC DIGESTION – A REVIEW.

PROGRAMME ADEME

N° contrat : 9893024

Date du contrat : 19/11/98

Durée du contrat : 12 mois

Responsable ADEME :

- Frédéric DOR

Travail effectué par SOLAGRO avec la collaboration de :

- **l'Agence Régionale de Mécanisation (ARM) ;**
- **l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (ENVT) ;**
- **l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse (ENSAT).**

Auteurs :

- Christian COUTURIER, Laurent GALTIER (SOLAGRO)

Avec la participation de :

- Philippe POUECH (ARM) ;
- Hubert BRUGERE, Laurent MARACHE (ENVT) ;
- Michel KAEMMERER (ENSAT).

RESUME FRANÇAIS

La recherche documentaire présentée ici s'appuie sur plus de 300 articles traitant du devenir des micro-polluants (germes pathogènes, métaux, micro-polluants organiques) au cours de la digestion anaérobie. Différents mécanismes biologiques et chimiques permettent l'élimination des composés organiques, tandis que certains Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques et les métaux lourds sont fixés dans la biomasse solide, atténuant les risques de contamination des eaux. La digestion thermophile est un procédé hygiénisant du point de vue des germes pathogènes, à la différence des procédés mésophiles. Ceux-ci offrent cependant une fiabilité importante par rapport aux procédés complémentaires ou concurrents, et leur emploi reste donc pertinent. La disponibilité en énergie, notamment, permet de maîtriser la régulation de la température, et facilite l'utilisation de traitements thermiques hygiénisants. D'une façon générale, la digestion anaérobie constitue un outil, qui s'inscrit dans une chaîne de gestion de produits organiques : de la sélection des produits à traiter, aux bonnes pratiques agricoles. Par ailleurs, la problématique de l'hygiénisation est encore mal appréhendée par les constructeurs et exploitants consultés. Des pistes de recherche semblent intéressantes, notamment en améliorant les connaissances des performances réelles des installations industrielles.

Mots-clés :

Hygiénisation ; dégradation ; digestion anaérobie ; pathogènes ; métaux ; micro-polluants organiques ; déchets et sous-produits organiques ; inhibition et toxicité.

ABSTRACT

Based on 300 scientific papers, the following bibliographical research deals with the fate of micropolluants (pathogens, heavy metals, organic pollutants) during anaerobic digestion. Different biological and chemical mechanisms allow organic compounds elimination, except from some Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) and heavy metals which are fixed to the solid biomass, permitting water contamination risks attenuation. Unlike mesophilic digestion, thermophilic digestion is a “sanitation” process regarding pathogens elimination. However, mesophilic digestion offers an important reliability compared with competitive or complementary processes. In particular, energy recovery from anaerobic digestion allows temperature control and makes easier further sanitation heat treatments. In general, anaerobic digestion represents a tool which can be included in an organic waste treatment line assuming waste selection and good agricultural practices. Otherwise, sanitation problem is still badly handled by waste operators and constructors which have been consulted. Research orientations seem especially interesting in improving knowledge of real industrial processes performances.

Key words :

Sanitation ; degradation ; anaerobic digestion ; pathogens ; organic micropolluants ; heavy metals ; organic wastes and by-products ; biogas plants ; sanitary requirements ; toxicity.

TABLE DES MATIERES

1. CONTEXTE, CADRE ET RAPPELS 6

1.1. OBJET DE L'ETUDE 7
1.2. MODE D'EMPLOI DU RAPPORT 8
1.3. DEFINITION DU CHAMPS D'ETUDE 10
1.4. RÔLE ET CHAMPS D'APPLICATION DE LA MÉTHANISATION 14
1.5. ASPECTS RÉGLEMENTAIRES 18
1.6. DESCRIPTION DES PROCESSUS BIO-PHYSICO-CHIMIQUES DE LA MÉTHANISATION 28

2. ANALYSE DOCUMENTAIRE 37

2.1. ETAT DES CONNAISSANCES 38
2.2. ACTIONS SUR LES PATHOGÈNES 39
2.3. ACTIONS SUR LES PHYTOPATHOGÈNES 50
2.4. ACTIONS SUR LES ÉLÉMENTS TRACES MÉTALLIQUES 51
2.5. ACTIONS SUR LES MICROPOLLUANTS ORGANIQUES 60
2.6. SYNTHÈSE 72

3. MISE EN ŒUVRE DES PROCÉDÉS ET DEVENIR DES ÉLÉMENTS DE DANGER 75

3.1. INTERNALISATION DES ASPECTS SANITAIRES DANS LES INSTALLATIONS DE MÉTHANISATION 76
3.2. ELÉMENTS DE COMPARAISON ANAÉROBIE / AÉROBIE SUR LE DEVENIR DES ÉLÉMENTS DE DANGER 81
3.3. MISE EN ŒUVRE DES PROCÉDÉS 86

4. SYNTHÈSE ET CONCLUSION 90

4.1. ATOUTS & CONTRAINTES DE LA DIGESTION ANAEROBIE 91
4.2. ZONES D'OMBRES ET PISTES DE RECHERCHE 94
4.3. CONCLUSION 95

BIBLIOGRAPHIE

ANNEXES :

Annexe 1 : Répartition des références bibliographiques par thème étudié.

Annexe 2 : Rappel sur les agents de risque sanitaire et leur toxicité.

Annexe 3 : Rappel sur les risques microbiologiques encourus par les travailleurs en station de traitement des eaux usées.

Annexe 4 : Résultats de l'étude bibliographique sur le devenir des agents pathogènes (bactéries, virus, parasites) en digestion anaérobie.

Annexe 5 : Tableau récapitulatif du devenir des micropolluants organiques en méthanisation.

Annexe 6 : Questionnaires destinés aux industriels (constructeurs et exploitants).

Annexe 7 : Liste des industriels contactés.

SOMMAIRE DETAILLE

1. Contexte, cadre et rappels

1.1. OBJET DE L'ETUDE

La gestion des résidus organiques fait l'objet d'une préoccupation croissante, tant de la part des collectivités locales et des entreprises productrices de ces produits, des agriculteurs qui en sont les utilisateurs naturels, que des administrations en charge des questions d'environnement et de santé publique, et des citoyens dont la demande en matière de sécurité alimentaire, de protection de l'environnement, de traçabilité, est forte.

La digestion anaérobie (ou méthanisation) est un ensemble de procédés de traitement de ces résidus qui présente de nombreux intérêts face à ces demandes multiformes. Elle permet tout à la fois de dépolluer ces produits (abattement de la charge organique polluante, des germes pathogènes, des odeurs…), de recycler la matière organique qui participe à la formation de l'humus, de produire une énergie locale et renouvelable, pour des coûts acceptables. Elle constitue un maillon essentiel dans une chaîne de gestion des résidus organiques.

Si dans son principe le recyclage de la matière organique vers les sols constitue la voie « naturelle », le problème provient de la contamination de cette matière organique par des « éléments à risque », d'origine anthropique ou xénobiotique : micro-polluants organiques ou métalliques, germes pathogènes.

On connaît bien l'action de la digestion anaérobie sur la matière organique proprement dite, et ses atouts vis à vis de cette problématique. Par contre, son effet sur les éléments à risque sont moins bien connus. Différents travaux ont été réalisés sur le devenir de ces contaminants : germes pathogènes, composés organiques xénobiotiques… Il n'existe apparemment pas de synthèses de ces travaux, offrant aux acteurs concernés une vision d'ensemble des atouts et limites de la digestion anaérobie du point de vue de la sécurité, de l'hygiène et de la santé publique.

L'objet de cette étude est de :

- Réaliser une synthèse des connaissances scientifiques, à partir d'une recherche documentaire couvrant l'ensemble de la problématique.
- Cerner le devenir des éléments à risque au sein d'une filière de traitement par méthanisation (abattement, forme et spéciation, milieu récepteur : sols, eaux…).
- Identifier les atouts et limites de la digestion anaérobie pour chaque type d'élément à risque.
- Pointer les lacunes et proposer des pistes d'études et recherches complémentaires.

1.2. MODE D'EMPLOI DU RAPPORT

La **partie I** rappelle le cadre de l'étude et son contexte.

Cette étude a été proposée par SOLAGRO à l'ADEME dans le cadre de l'appel à projets du programme Santé – Déchets, en 1998. Elle vise à réaliser un état des connaissances sur le devenir des germes pathogènes et des micropolluants au cours de la méthanisation des déchets et sous-produits organiques en réacteur.

Le **champs d'étude** est précisé avec des rappels sur les notions de déchets et sous-produits organiques, et sur l'état de développement des différentes filières de traitement par méthanisation en réacteur.

L'étude aborde également le **contexte réglementaire**, d'une part sur l'utilisation des produits organiques issus des déchets, d'autre part sur la protection des personnels.

Les **processus bio-physico-chimiques** des technologies de méthanisation sont décrits de manière à rappeler les différents mécanismes en jeu, et le rôle des conditions opératoires (température, temps de rétention, pH…).

La **partie II** présente l'analyse documentaire réalisée sur le devenir des agents à risque au cours de la digestion anaérobie.

L'analyse documentaire a consisté à rechercher des sources d'information auprès de différentes banques de données, mais aussi également à travers divers contacts personnels, consultation de spécialistes en Europe, participation à des colloques. 150 articles environ ont été traités, dont la majorité sur les germes pathogènes.

L'analyse documentaire aborde les actions de la digestion anaérobie sur :

- **Les pathogènes**. Les sources documentaires – abondantes - sont classées selon l'agent pathogène (bactéries, virus, parasites), le niveau de température, le type de substrat, et le type d'expérimentation (laboratoire ou site industriel). La problématique consiste à déterminer le taux d'abattement de ces agents, dans quelles conditions il y a disparition ou inactivation. Les problèmes d'inhibition qui peuvent être rencontrés lors de la digestion anaérobie (antibiotiques) sont abordés.
- **Les éléments traces métalliques** : ceux-ci ne sont pas dégradés au cours de la digestion. La problématique consiste ici à analyser la forme (spéciation) prise par les métaux et leur devenir ultérieur, notamment leur répartition entre phase liquide et solide. Les rôles – positifs et négatifs – de ces agents dans le procédé de digestion anaérobie sont également abordés, avec notamment les risques d'inhibition.
- **Les micropolluants organiques** : certains sont dégradés au cours de la digestion en produits à caractère moins nocif et/ou biodégradables ultérieurement. D'autres sont peu dégradés, et la question est alors de savoir sous quelle forme et sous quelle phase ils seront présents en sortie de procédé.
- Pour chaque type d'agent à risque, nous avons cherché à identifier les mécanismes en jeu (thermiques, chimiques…). Une synthèse présente les résultats obtenus.

La **partie III** dresse la synthèse de ces travaux.

La double approche taux de dégradation / forme résiduelle (spéciation, répartition phase liquide et phase solide…) a pour objectif d'identifier les performances de la digestion anaérobie.

Une enquête menée auprès de constructeurs et d'exploitants d'installations de traitement de déchets par digestion anaérobie, complète cette investigation. Elle permet de mesurer la sensibilité des acteurs concernés aux aspects sanitaires du traitement en réacteur.

En conclusion, la synthèse récapitule les atouts et limites de la digestion anaérobie du point de vue du devenir des micropolluants en digesteur, les limites de cette recherche documentaire, et esquisse des suggestions de travaux de recherche complémentaires.

1.3. DEFINITION DU CHAMPS D'ETUDE

1.3.1. Définition des termes employés

La « **matière organique** » est la « matière spécifique des êtres vivants, végétaux et animaux ». Les molécules organiques peuvent se classer en trois grandes familles : protides, lipides, glucides. Elles sont principalement composées de carbone, hydrogène, oxygène et azote. La matière organique peut se mesurer par calcination de la matière sèche à 550°C.

En solution aqueuse, elle est estimée par les mesures de DBO et DCO (demandes biologiques et chimiques en oxygène). La DCO est la quantité totale d'oxygène nécessaire pour dégrader par voie chimique la totalité de la matière oxydable. Elle prend en compte toutes les matières oxydables, minérales et organiques, solides, dissoutes ou volatiles. Elle est mesurée par la réduction à chaud du bichromate de potassium (méthode normalisée NF T 90.101). La DBO est la quantité d'oxygène nécessaire aux microorganismes pour dégrader la matière organique biodégradable. On mesure généralement la DBO5 (dégradation pendant 5 jours).

1.3.2. Notion de déchets et sous-produits

Est un **déchet** « tout résidu de production, transformation ou utilisation, toute substance, matériau, produit ou plus généralement tout bien meuble abandonné ou que son détenteur destine à l'abandon » (Loi du 15 Juillet 1997), ou encore « toute substance ou tout objet dont le détenteur se défait ou a l'intention ou l'obligation de se défaire » (Directive européenne du 18 Mars 1987).

On parle de « **sous-produit** » dans le cas d'une activité de production ou de transformation générant, outre le produit principal, des produits qui font l'objet d'une utilisation connexe. Ainsi, les lisiers et fumiers ne sont pas des déchets à proprement parler, dans la mesure où ils sont utilisés comme fertilisants des sols, et jouent d'ailleurs un rôle indispensable à cet égard. Cependant, en cas d'excédent structurel, leur détenteur peut être amené à s'en débarrasser : ces sous-produits peuvent alors être considérés comme des déchets. Inversement, un sous-produit peut être considéré comme une matière première, parfois dite « secondaire », lorsqu'elle est recyclée dans un process, par exemple les papiers-cartons de recyclage. Les frontières entre sous-produits et déchets sont donc perméables.

Les « **co-produits** » des activités de production ou transformation sont les différents produits générés par une même activité et valorisés selon leur voie propre. Si pour l'un de ces co-produits la filière de valorisation vient à disparaître, il s'agit alors d'un sous-produit pour lequel il est nécessaire d'envisager un autre mode de valorisation, voire d'un déchet dont il convient de se débarrasser. Ici encore, les frontières sont perméables, dépendantes des conditions locales ou conjoncturelles (cours des marchés, filières d'écoulement…).

Le degré de pollution potentielle ne recouvre pas exactement la dichotomie déchets - sous-produits, puisque l'on peut avoir des sous-produits polluants (non maîtrise de l'épandage des lisiers) et des déchets qui le sont moins (déchets d'espaces verts des collectivités faisant l'objet d'un compostage). Tout déchet doit faire l'objet d'un traitement. Les différents sous-produits organiques obéissent à des réglementations spécifiques destinées à en réduire le caractère polluant.

Les produits concernés par cette étude sont les « résidus organiques », déchets ou sous-produits dont la part organique est prépondérante, et qui sont susceptibles d'être traités pour réduire le caractère polluant, que ce traitement soit imposé par la réglementation ou non.

1.3.3. Les déjections d'élevage

Les déjections animales (fumier, lisier, purin) sont d'origine essentiellement agricole. Il s'agit de davantage de sous-produits que de déchets à proprement parler, qui ont une valeur intrinsèque en tant qu'amendement organique (on parle même d'engrais de ferme). Ces produits sont composés des excrétats des animaux associés plus ou moins des éléments carbonés constitutifs des litières (paille, sciure,…). Les animaux de rentes étant des bovins, des moutons, des chèvres, des porcs ou des volailles.

Les déjections animales se rencontrent également en abattoirs, et dans des entreprises non agricoles (élevages de chevaux…).

1.3.4. Les boues des stations d'épuration municipales

Les stations d'épuration produisent des boues à différents stades :

- Boues primaires au niveau de la décantation primaire. Elles possèdent généralement une teneur en matières organiques élevées.
- Boues biologiques au niveau de la décantation secondaire.
- D'autres types de produits organiques sont également reçus en STEP (graisses…).

1.3.5. Déchets organiques municipaux

Les déchets organiques municipaux sont :

- les déchets bruts collectés, qui contiennent les déchets organiques des ménages (putrescibles, papiers-cartons…) en mélange aux déchets non fermenstescibles (métaux, plastiques, verre, inertes…) ;
- la fraction fermentescible des ordures ménagères, triée à la source ;
- les déchets des espaces verts privés et publics ;
- les déchets organiques des entreprises (triés ou bruts) collectés en même temps que les ordures ménagères, provenant principalement des PME (commerces, services, artisans…).

1.3.6. Déchets et sous-produits organiques des entreprises

Il s'agit ici des déchets organiques solides produits par les entreprises, et collectés de façon spécifique (triés ou brut) :

- déchets à caractère organique issus du procédé de transformation (marcs de raisin…). Les produits concernés ici proviennent surtout des entreprises agro-alimentaires ;
- déchets en mélange assimilables aux déchets municipaux de part leur composition (mélange de papiers-cartons de bureau et d'emballage, de déchets de procédés…).

1.3.7. Effluents industriels

De nombreuses activités génèrent des effluents liquides chargés en matières organiques :

- industries agro-alimentaires (abattoirs, distilleries, laiteries, amidonneries, conserveries, brasseries…)
- papeterie, chimie, parfumerie…
- industries des hydrocarbures…

A la différence des eaux usées municipales, les effluents industriels peuvent faire l'objet d'un traitement par digestion anaérobie compte tenu de leur concentration en charge organique (DCO).

Pour plusieurs types d'activités, les effluents industriels peuvent être chargés en boues dont la composition d'apparente à celle des boues urbaines, avec parfois cependant des caractéristiques qui peuvent s'en écarter fortement.

Secteur	Déchet ou sous-produit organique	Nature	Origine	Contenu
Agricole	Lisiers	Liquide	déjections animales	mélange fèces, urines et eau de lavage
	Fumiers	Solide	déjections animales et litière	mélange fèces, urines et litière
	Résidus de culture	Solide	cultures	pailles, rafles de maïs et de raisin
Collectivités	Déchets organiques des ordures ménagères (OM) = Fractions Fermentescibles (FF)	Solide	consommation, activité des ménages	papiers, cartons et résidus de la table (matières végétales et animales)
	Boues de stations d'épuration (STEP)	Liquide	traitement des eaux usées	matière carbonée et biomasse décantée
	Déchets verts (DV)	Solide	entretien des espaces verts et des jardins de particuliers	résidus de tonte, branches feuilles…
Agro-industries	Sous-produits organiques des abattoirs	Solide / Liquide	abattage des animaux et équarrissage	matières stercoraires, caillots de sang, sciures d'os, gras…
	Effluents des distilleries	Solide / liquide	pressage, fermentation du raisin	marc de raisin, pulpes, vinasses...
	Effluents des industries des fruits et légumes	Solide / liquide	eau de procédés et eau de lavage	pelures, restes de fruits et légumes….+ eau de lavage
	Effluents des industries laitières	Liquide	eau de lavage	lait, crème, lactosérum…+ eau de lavage
Autres	Boues papetières	Solide	opérations de désencrage	matière carbonée et biomasse décantée
	Effluents des industries de la chimie et pétrochimie	Liquide		composés aliphatiques, aromatiques homocycliques, aromatiques hétérocycliques…

1.4. ROLE ET CHAMPS D'APPLICATION DE LA METHANISATION

1.4.1. Applications et état de développement

La méthanisation, ou digestion anaérobie (DA), est un processus de biodégradation anaérobie de la matière organique par des populations microbiologiques. Elle conduit à la formation d'un gaz composé principalement de méthane et de gaz carbonique, en proportions qui dépendent du substrat et du procédé de fermentation.

La digestion anaérobie est utilisée principalement comme un moyen efficace d'abattement de la charge organique biodégradable, susceptible de générer nuisances et pollutions de nature organique.

Il s'agit d'un **outil de gestion de la matière organique** qui aboutit, selon les cas :

- Le plus souvent, à la restitution aux sols de la matière organique stable et qui contribue à la formation de l'humus sous forme de compost ou amendement organique, de boues ou lisiers déshydratés ou liquides.
- Dans le cas de certains effluents, au rejet d'eaux épurées dans le milieu naturel.
- Ou encore, à la production d'un résidu biologiquement stabilisé destiné à l'enfouissement ou à l'incinération lorsque le retour au sol n'est pas souhaité, pour des raisons de contamination notamment, ou de disponibilité en surfaces d'épandage.

La digestion anaérobie est un procédé générique, qui s'applique à des situations extrêmement diverses : multiplicité des substrats concernés, grande variété dans les procédés industriels, taille, stade de développement…

Il n'existe pas d'état des lieux exhaustif des réalisations existantes en France. On peut néanmoins dessiner une vision d'ensemble.

1.4.1.1. Boues de stations d'épuration urbaines

Depuis la fin du XIX° Siècle, la méthanisation a été comprise et exploitée en réacteurs à des fins industrielles. Les premières applications ont porté sur la digestion anaérobie des boues de stations d'épuration urbaines. Le biogaz produit a été utilisé pour l'éclairage public, en substitution au gaz de ville. La DA constituait, pour nombre de stations, le seul moyen de traitement des boues, voire des eaux usées : il s'agissait de décanteurs-digesteurs, dont la fonction était de réaliser dans le même ouvrage la décantation des matières en suspension des eaux usées et leur biodégradation, avant rejet des eaux dans le milieu naturel. La digestion a ensuite été séparée de la décantation, et les années 50 - 60 ont vu la multiplication, en France, des digesteurs anaérobies.

La plupart des installations en service aujourd'hui traitent des boues mixtes, issues d'une part de la décantation primaire des boues, et d'autre part de la décantation des boues biologiques produites dans les bassins d'aération des eaux usées. Il existait au début des années 1990 près de 180 digesteurs de boues de stations d'épuration, totalisant un parc de 22 millions d'équivalents habitants.

De fait, la DA constituait la principale filière de stabilisation des boues urbaines en capacité de traitement installée. La DA est réputée adaptée à des stations de capacité importante - au delà de 50 à 100.000 EH - compte tenu des coûts fixes. Elle est en déclin depuis une dizaine d'années, avec le développement, notamment, de l'aération prolongée sans décantation primaire.

La DA des boues urbaines répond à différents objets :

- réduire les quantités de matières sèches et matières sèches volatiles ; les taux d'abattement moyens sont respectivement de 33 et 50%, et jusqu'à 50 et 70% ;
- réduire les nuisances olfactives, les risques sanitaires ;
- améliorer l'aptitude des boues à la déshydratation, en réduisant leur caractère colloïdal.

Il s'agit d'un outil dans une chaîne de gestion des boues, pouvant conduire à l'épandage, à l'enfouissement ou à l'incinération.

1.4.1.2. Déjections d'élevage

Dans les années 1920, sont apparues les premières expériences en France de digestion anaérobie des fumiers et déjections d'élevage, qui se sont prolongées entre 1939 et 1945, puis à nouveau autour de 1956 lors de la crise de Suez, et enfin entre 1973 et 1985. Depuis cette date, aucune nouvelle opération n'a été réalisée. Sur une centaine d'opérations réalisée alors, une dizaine fonctionne aujourd'hui.

En Europe, l'utilisation de la DA comme mode de gestion des lisiers s'est poursuivie et développée au Danemark à partir du milieu des années 80, puis dans différents pays à partir du début des années 90, notamment en Allemagne. Citons également l'utilisation de la DA en Inde et en Chine avec des digesteurs adaptés aux conditions locales, représentant plusieurs millions d'unités domestiques ou villageoises.

Dans la majorité des cas, la DA porte sur des lisiers, qui présentent l'intérêt d'être pompables, à la différence des fumiers pailleux. Pour ceux-ci, les techniques employées ont souvent été de type discontinu, avec d'importantes contraintes d'exploitation (chargement et déchargement des réacteurs).

La DA des déjections d'élevage pourrait se développer à nouveau avec la nécessité croissante de traiter celles-ci, du fait de la concentration accrue des élevages et des problèmes posés sur l'environnement par ces exploitations.

Comme pour les boues urbaines, la DA des lisiers permet de réduire les quantités de matières sèches et de matières organiques, de réduire les nuisances olfactives et les germes pathogènes. Au Danemark, les installations collectives font office de « banques à lisier », qui n'ont pû se développer en France du fait du risque sanitaire de contamination par les germes pathogènes. Elles assurent, pour la quasi totalité désormais, l'hygiénisation des lisiers, soit par une étape préalable de pasteurisation, soit par la digestion elle-même lorsqu'il s'agit d'une digestion thermophile.

1.4.1.3. Effluents industriels

Les premières applications de la digestion anaérobie aux effluents industriels date, en France, du milieu des années 1970. Son développement, modéré, est continu. La DA s'avère largement compétitive avec d'autres modes de traitement - notamment l'aération - pour des effluents chargés en DCO facilement biodégradable. Elle est utilisée, en France, dans les industries agro-alimentaire, papetière, chimique… On compte aujourd'hui près de 70 unités, à raison de 4 à 6 nouvelles installations par an.

Des tentatives ont été menées pour traiter directement des effluents urbains, par exemple dans des zones littorales avec une saison touristique estivale importante. La charge organique de tels effluents étant faible, la DA nécessite d'importants volumes et ne génère pas suffisamment de gaz, en terme de volume de gaz par volume de digesteur, pour assurer un chauffage correct et régulier des réacteurs. Cette filière est semble-t-il abandonnée. Il existe un seuil minimal de charge organique biodégradable pour les effluents, au-dessous de laquelle la DA ne permet pas le maintien de la température optimale, et de fait s'avère moins performante que les technologies alternatives, notamment aérobies.

La DA des effluents industriels permet de réduire sensiblement la pollution organique, avec des taux d'abattement de la DCO pouvant atteindre 99%, et le plus souvent entre 80 et 95%. Elle peut faire l'objet d'un traitement complémentaire, par exemple de type aérobie, pour augmenter encore le taux de dépollution. Les effluents épurés sont alors rejetés dans le milieu naturel.

1.4.1.4. Déchets municipaux solides et assimilés

La DA des déchets municipaux solides et assimilés a été expérimentée à partir de la fin des années 1970, et utilisée sur pilote industriel en France dès 1984. La première opération en véritable grandeur (Amiens) date de 1988.

Aucune autre installation n'a été réalisée à ce jour, pour deux raisons principales : d'une part le discrédit porté par les déboires initiaux de l'unité d'Amiens jusqu'en 1990, et d'autre part par la difficulté de gérer correctement la DA de déchets municipaux non triés. Plusieurs constructeurs en Europe ont, parallèlement, mis au point des procédés de DA de déchets municipaux, le plus souvent triés à la source (FFOM - fraction fermentescible des déchets ménagers, comprenant les déchets putrescibles, des papiers-cartons, des déchets de jardins et d'espaces verts). Depuis le milieu des années 90, cette filière connaît en Europe un développement important, avec un taux de croissance du parc de l'ordre de 25% par an - celui-ci étant aujourd'hui capable de traiter près de 1 million de tonnes de déchets annuellement.

L'objet de la DA de la fraction fermentescible des déchets municipaux et assimilés est d'abord de réduire la charge organique potentiellement polluante de des résidus, soit en vue d'une valorisation agronomique, soit comme mode de prétraitement avant enfouissement en centre de stockage.

1.4.2. Les procédés de méthanisation en réacteur

Le principe général consiste à introduire le produit dans un digesteur fermé où sont maintenues des conditions de température, d'agitation et de temps de séjour favorables au développement de la biomasse active.

Les procédés industriels peuvent se classifier selon différents paramètres opératoires :

- Le **temps de séjour :** celui-ci varie de quelques heures à quelques mois. Il est typiquement de l'ordre de 2 à 4 semaines pour les produits tels que boues, lisiers, déchets solides, contre quelques jours pour les effluents industriels très facilement biodégradables.
- La **température** : les digesteurs mésophiles (plage autour de 37°C) sont les plus nombreux en France et constituent la solution classique. Les digesteurs thermophiles (55°C) offrent en principe des cinétiques plus rapides. Ils sont employés comme mode d'hygiénisation, par exemple pour les digesteurs danois sur lisiers. Les digesteurs psychropiles (25°C) sont employés sur certains effluents industriels chauds et facilement biodégradables.
- La **circulation du substrat et le mode de brassage** : la voie classique est l'infiniment mélangé pour les produits de type boues et lisiers. Les effluents sont brassés de façon mécanique ou par injection de gaz. Les digesteurs pour effluents liquides des industries sont le plus souvent des digesteurs à supports de biomasse, soit fixes, soit en suspension (lit fluidisé). Le support peut être la biomasse elle-même, sous forme granuleuse : ce sont les digesteurs à lit de boues (UASB : up-flow anaerobic sludge blanket), qui représentent la majorité des digesteurs installés sur effluents industriels en Europe. Signalons également les digesteurs de type piston, utilisés pour des produits à forte siccité (déchets ménagers organiques), les digesteurs « batch » (alimentation séquentielle) pour les petites unités.
- Il existe également de nombreuses variantes, liées à la recirculation en tête des populations microbiologiques présentes dans les boues récupérées en sortie de digesteur.

1.5. ASPECTS REGLEMENTAIRES

1.5.1. Le compost (Norme NFU 44051)

La norme française actuelle (NFU 44051 Amendements organiques : dénominations et spécifications) date de Décembre 1981.

Ses spécifications portent sur les teneurs minimales en matières et azote organiques et les teneurs maximales en azote total dans les différentes catégories d'amendements organiques.

Les producteurs et importateurs sont en outre tenus de faire procéder à l'analyse des teneurs en Cd, Hg, Pb, Cr, Cu, Ni, Se, Zn, As, Mo dans leurs produits au moins tous les six mois et lors de toute modification dans l'origine ou la nature de leurs matières premières.

Des prélèvements et des examens réguliers doivent être pratiqués afin d'évaluer les risques pouvant résulter de la présence de germes pathogènes pour l'homme et les animaux et de substances phyto-toxiques pour les cultures.

Les autres recommandations portent sur le marquage de l'emballage de distribution (inventaire des mentions obligatoires, facultatives et interdites).

Cette norme ne prévoit donc pas de test agronomique, d'éco ou phytotoxicité du produit, du fait de l'absence de connaissances dans ce domaine à l'époque de sa parution. L'amélioration des techniques de mesure et des protocoles d'essais rend désormais cette norme caduque sur le plan technique. Ainsi, l'ensemble des professionnels de la filière estime nécessaire la révision de cette norme. De plus, l'échec de la normalisation européenne laisse les pays membres libres de préparer des normes nationales.

La parution d'une nouvelle norme en remplacement de la norme NFU 44051 existante ne devrait pas être prévue avant Septembre 2000. Cette nouvelle norme devrait comporter deux parties distinctes (voire deux normes) :

- une pour les produits dont l'origine est reconnue comme ne faisant courir aucun risque aux cultures, à l'homme et à l'environnement ;
- une autre pour les produits recyclés, en particulier les fermentescibles des déchets ménagers.

La mise en place en 1998 d'un projet de recherche pluriannuel sur l'écotoxicité du compost mené par l'ADEME devrait en outre apporter des éléments utiles à l'élaboration de recommandations en terme d'impact sur l'écosystème.

Par ailleurs, une norme spécifique aux boues serait en préparation et remplacerait la norme NFU 44041 (matières fertilisantes. Boues de STEP) en date de Juillet 1985.

1.5.2. La procédure d'homologation

D'après l'article 3 de la loi n° 79-595 du 13 Juillet 1979 (J.O. du 14 Juillet 1979), un produit est homologué quand "*il a fait l'objet d'un examen destiné à vérifier son efficacité et son innocuité à l'égard de l'homme, des animaux et de son environnement, dans les conditions d'emploi prescrites et normales*".

Pour obtenir l'homologation, un dossier doit être déposé auprès du Ministère de l'Agriculture, Direction de la qualité, Sous-Direction de la protection des végétaux, Bureau de l'homologation des matières fertilisantes et supports de culture.

La nécessité de vérifier l'efficacité et l'innocuité d'un produit ou d'un ensemble de produits dans les conditions d'emploi implique :

1. une caractérisation la plus complète possible du produit ;
2. l'assurance de la constance de leur composition.

1. Il est nécessaire pour cela de fournir les résultats d'analyse effectuée à partir d'un échantillon représentatif du produit tel qu'il est prévu de le mettre sur le marché.

Les analyses comprennent :

- les éléments fertilisants majeurs (N, P_2O_5, K_2O totaux) ;
- les éléments fertilisants secondaires (CaO, MgO, SO_3, Na_2O, Cl totaux) ;
- les oligo-éléments (B, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn totaux) ;
- les éléments traces (As, Cd, Cr, Hg, Ni, Pb, Se totaux) ;
- les formes chimiques des éléments fertilisants ;
- les solubilités conventionnelles des éléments fertilisants (et de leurs formes chimiques) ;
- tout élément ou substance ou composé ou agent chimique ou biologique spécifique ou micro-organisme intervenant dans le procédé de fabrication du produit ou lié au type d'activité ou d'industrie concernée et susceptible d'être retrouvé dans le produit ;

  (exemples : dosage du fluor ou numérotation des bactéries intervenant dans la fabrication, micro-polluants métalliques, PCB, AOX, hydrocarbures, pesticides, antibiotiques)
- tout élément ou constituant ou caractéristique particulière dont le demandeur souhaite revendiquer l'effet ;

  (exemples : teneur en thiosulfate, en acide humique, granulométrie)

Des déterminations complémentaires peuvent être effectuées selon la nature du produit :

- pour tout produit **contenant ou pouvant contenir des matières organiques d'origine animale ou végétale** :
  - matière organique ;
  - N organique ;
  - rapport C/N ;
  - analyse microbiologique :
    - micro-organismes aérobies à 30°C (dans 1g) ;
    - entérocoques (dans 1g) ;
    - Escherichia coli (dans 1g) ;
    - Salmonella (dans 1 ou 25g) ;
    - Staphylococcus aureus ou à coagulase + (dans 1g) ;
    - levures et moisissures avec confirmation d'Aspergillus ;
    - œufs et larves de nématodes (dans 1 ou 25g) ;

    et détermination, si nécessaire en fonction des usages revendiqués, d'autres micro-organismes, de certains nématodes, champignons, bactéries, virus.

[…]

- pour tout produit **contenant des boues issues du traitement des eaux usées** :
  - PCB (congénères 28, 52, 101, 118, 138, 153, 180) ;
  - fluoranthène, benzo(b)fluoranthène, benzo(a)pyrène.

2. Pour un produit donné, la constance de composition est caractérisée par l'homogénéité, l'invariabilité et la stabilité du produit.

L'innocuité doit être démontrée par rapport aux conditions d'utilisation préconisées dans le dossier de demande d'homologation ou par rapport aux conditions normales d'utilisation du(des) produit(s).

En plus de la caractérisation prévue (voir plus haut), il est recommandé de fournir également, à chaque fois qu'un risque de toxicité est susceptible d'apparaître, en particulier par rapport aux valeurs de références retenues, des résultats d'analyses complémentaires effectuées à partir d'autres échantillons représentatifs du (des) produit(s) et portant sur les paramètres risquant de poser problème (par exemple, recherche de certains micro-organismes ou de certains éléments traces).

La connaissance de l'ensemble des matières premières utilisées et du procédé de fabrication fournit des éléments d'information sur l'innocuité d'un produit.

Les résultats d'analyses, les fiches de données de sécurité, les certificats sanitaires, les fiches ou notices techniques relatives aux matières premières utilisées permettent une meilleure appréciation de la toxicité potentielle du (des) produit(s). La fourniture de ces éléments pour les différentes matières premières et pour le(s) produit(s) fini(s) est souhaitable. Elle est même indispensable à chaque fois que ces éléments sont requis au titre d'une autre réglementation.

Doit être exclu l'emploi de toute matière première ou produit susceptible de présenter un risque, par exemple en matière d'agents transmissibles non conventionnels, dont l'encélopathie spongiforme bovine.

Selon les éléments fournis dans le dossier, la Commission des matières fertilisantes et des supports de culture peut :

- délivrer une homologation à renouveler tous les 10 ans ;
- délivrer une autorisation provisoire de vente (APV) à renouveler tous les 4 ans maximum ;
- demander un complément d'information sur le dossier ;
- refuser l'homologation.

Dans la pratique, cette procédure d'homologation est rare. Seulement 5 à 10% des matières et des supports de culture font l'objet d'une homologation, ou, exceptionnellement, d'une autorisation provisoire de vente (Orsini et Monnet, 1994).

1.5.3. L'épandage des boues

Le décret du 8 Décembre 1997 définit les conditions dans lesquelles sont épandus sur des terres agricoles, forestiers ou en voie de reconstitution ou de revégétalisation, les boues issues du traitement des eaux usées.

Les boues bénéficiant d'une homologation ou d'une APV ou API (voir 1.5.2. La procédure d'homologation) ou conformes à une norme rendue d'application obligatoire ne sont pas soumises aux dispositions du décret du 8 Décembre 1997.

L'arrêté du 8 Janvier 1998 fixe les prescriptions techniques auxquelles doivent satisfaire les opérations d'épandage sur sols agricoles de boues issues du traitement des eaux usées, en application du décret précédent.

Cet arrêté mentionne en particulier les valeurs limites au-delà desquelles il est interdit d'épandre les boues au regard des règles générales d'hygiène et toutes autres mesures propres à préserver la santé de l'homme au sens de l'article L.1 du Code de la santé publique.

Les boues ne peuvent être épandues si (Article 11) :

- Les teneurs en éléments traces métalliques dans les sols dépassent l'une des valeurs limites figurant dans le tableau suivant.

Valeurs limites de concentration en éléments traces dans les sols :

Eléments traces dans les sols	Valeur limite en mg/kg MS
Cadmium……..	2
Chrome……	150
Cuivre……...	100
Mercure……	1
Nickel……	50
Plomb……...	100
Zinc……...	300

- Tant que l'une des teneurs en éléments ou composés traces dans les boues excède les valeurs limites figurant dans les tableaux suivants.

Teneurs limites en éléments traces dans les boues :

Eléments traces	Valeur limite dans les boues (mg/kg MS)	Flux maximum cumulé, apporté par les boues en 10 ans (g/m^2)
Cadmium……	20 (*)	0,03 (**)
Chrome……	1.000	1,5
Cuivre……..	1.000	1,5
Mercure……	10	0,015
Nickel……	200	0,3
Plomb……..	800	1,5
Zinc……..	3.000	4,5
Chrome + cuivre + nickel +zinc…	4.000	6

(*) 15 mg/kg MS à compter du 1er Janvier 2001 et 10 mg/kg à compter du 1er Janvier 2004.

(**) 0,015 g/m^2 à compter du 1er Janvier 2001.

- Dès lors que le flux, cumulé sur une durée de dix ans, apporté par les boues sur l'un de ces éléments ou composé excède les valeurs limites figurant dans les tableaux suivants.

Teneurs limites en composés traces organiques dans les boues :

Composés traces	Valeur limite dans les boues (mg/kg MS)		Flux maximum cumulé, apporté par les boues en 10 ans (g/m^2)	
	Cas général	Epandage sur pâturages	Cas général	Epandage sur pâturages
Total des 7 principaux PCB (*)	0,8	0,8	1,2	1,2
Fluoranthène……..	5	4	7,5	6
Benzo (b) fluoranthène…….	2,5	2,5	4	4
Benzo (a) pyrène…….....	2	1,5	3	2

(*) PCB 28, 52, 101, 118, 138, 153, 180.

Concernant les aspects pathogènes, une boue est considérée comme hygiénisée quand, à la suite d'un traitement ; elle satisfait aux exigences définies ci-dessous (Article 16) :

- Lors de la mise en service de l'unité de traitement, analyses initiales en sortie de la filière de traitement démontrant son caractère hygiénisant, les concentrations suivantes devront être respectées :
  - Salmonella < 8 NNP/10 g MS ;
  - Entérovirus < 3 NPPUC/ 10 g MS ;
  - Œufs d'helminthes pathogènes viables < 3/ 10 g MS.
- Une analyse des coliformes thermotolérants sera effectuée au moment de la caractérisation du process.
- Les traitements d'hygiénisation font ensuite l'objet d'une surveillance des coliformes thermotolérants à une fréquence d'au moins une analyse tous les quinze jours durant la période d'épandage. Les concentrations mesurées seront interprétées en référence à celle obtenue lors de la caractérisation du traitement et doivent démontrer un bon fonctionnement de l'installation de traitement et l'absence de re-contamination.

Le rappel des risques sanitaires et de la toxicité des germes pathogènes et des micropolluants organiques et métalliques présents dans les déchets est reportée en annexe 2.

1.5.4. La protection des travailleurs en station de traitement des eaux usée (recommandations de la CNAM)

La présentation des risques microbiologiques encourus par les travailleurs en station de traitement des eaux usées est reportée en annexe 3.

Les recommandations existantes pour la protection des travailleurs dans le cadre des stations de traitement des eaux usées (Recommandation R 213 de la CNAM ; Guide pratique de ventilation N°19 – ED 820, CNAM) tiennent compte :

des risques pathologiques et toxicologiques liés aux produits de base utilisés ou à ceux résultant du traitement ;

des risques d'incendie et d'explosion liés à la présence de résidus, de produits inflammables, de gaz de fermentation nécessaires à l'exploitation ou introduits accidentellement par les eaux résiduaires.

Hormis les recommandations faites pour l'utilisation des produits dangereux (produits toxiques, corrosifs, nocifs, explosifs ou inflammables), plusieurs types de recommandations sont formulés.

1.5.4.1. Prévention des risques pathologiques et toxicologiques

(Article 5. Mesures de prévention, chapitres 5.3 et 5.4) :

- La ventilation suffisante de tous les locaux ou zones de travail. Lorsqu'une ventilation forcée est nécessaire, contrôler par un dispositif automatique de signalisation le bon fonctionnement de celle-ci ou de la qualité de l'atmosphère.
- Munir les postes de préparation à fort empoussièrement d'un système d'aspiration efficace.
- Avant toute intervention dans les cuves, réservoirs et autres capacités, procéder à une analyse des risques et à la mise en place des moyens de prévention adéquats.
- Prévoir des points d'eau à proximité immédiate des postes les plus sales. Equiper laboratoires et locaux de préparation de moyens de lavage, en fonction des produits mis en œuvre (douche d'urgence, fontaine ou douche oculaire, etc…).
- Procéder à une lutte permanente contre les insectes et les rongeurs.

1.5.4.2. Risques d'incendie et d'explosion

- Aérer naturellement ou ventiler artificiellement les locaux ou zones à risque de concentration en produits explosibles, notamment ceux où se trouvent des conduites et des appareils à circulation de gaz ou qui sont reliés à des digesteurs.
- Dans les locaux souterrains ou abritant des moteurs thermiques ainsi que dans les puits et canaux praticables, exclure toute aération naturelle, vérifier le fonctionnement de la ventilation par un dispositif automatique et contrôler l'atmosphère par un explosimètre.

- N'utiliser que du matériel pour atmosphère explosible.

1.5.4.3. Mesures de prévention concernant le personnel

(Article 6)

- Prévoir, notamment dans les petites unités, une liaison téléphonique ou radiotéléphonique avec l'extérieur.
- Faire exécuter par deux personnes les tâches dangereuses. Dans les autres cas, assurer au profit du travailleur isolé une surveillance directe ou indirecte, de jour comme de nuit.
- Informer périodiquement, et de façon exhaustive, le personnel sur les risques auxquels il est exposé, sur les moyens mis à sa disposition et sur les précautions qu'il doit prendre en conséquence.
- Former plus particulièrement le personnel habilité à intervenir sur le matériel ou à manipuler les produits et substances dangereux.
- Former le personnel de façon qu'au moins un salarié présent soit sauveteur-secouriste du travail.
- Former le personnel aux principes de base de la manutention manuelle.
- Doter le personnel, donner les consignes d'utilisation, et veiller au port effectif, notamment de :
    - vêtements de travail adaptés (bleu, coiffure) ;
    - chaussures de sécurité à semelle antidérapante (en général bottes) ;
    - gilet de sauvetage pour des opérations exceptionnelles ;
    - harnais de sécurité ;
    - casque antibruit pour la présence dans les locaux bruyants ;
    - gants de protection adaptés aux travaux (manipulation de produits toxiques, manutention) ;
    - matériel respiratoire ;
    - visières.
- S'assurer du respect absolu des interdictions de fumer.
- Prendre sur avis du médecin du travail, les mesures particulières qui s'imposent.

1.5.4.4. Commentaires

Ainsi, dans le cadre du traitement des eaux usées, les seules mesures spécifiques à la présence d'un digesteur sont liées à la prévention des émissions de gaz de fermentation.

Les mesures relatives aux risques pathogènes sont considérées au niveau plus général de la station de traitement dans son ensemble - et plus particulièrement au niveau des entrées-sorties des systèmes de traitement.

Enfin, l'ensemble de ces mesures, initialement destiné aux stations de traitement des eaux usées, nous a été utile à l'élaboration des questionnaires à l'attention des constructeurs de digesteur anaérobie et des exploitants utilisant un digesteur dans leur système de traitement des déchets et sous-produits organiques (voir chapitre 3.1.)

1.5.5. Tableau récapitulatif

Ce tableau a pour objectif de reprendre l'ensemble des documents utiles à l'approche sanitaire de la gestion et du traitement des déchets organiques en France.

Catégorie	Norme, Recommandation, Réglementation	Remarques
Amendements organiques : dénominations et spécifications	Norme : ▪ NFU 44-041 (Décembre 1981)	Remplacement prévu d'ici Septembre 2000 (BNSCAO)
Matières fertilisantes. Boues des ouvrages de traitement des eaux usées urbaines	Norme : ▪ NFU 44-051 (Juillet 1985)	Remplacement prévu (BNSCAO)
Homologation d'un produit matières fertilisantes et supports de culture	Réglementation : ▪ Loi de Juillet 1979 Procédure : ▪ Dossier de demande d'homologation à déposer auprès du Bureau d'Homologation.	
Epandage de boues	Réglementation : ▪ Décret du 8 Décembre 1997 ▪ Arrêté (prescriptions techniques) du 8 Janvier 1998	
Protection des travailleurs	Recommandations : ▪ Construction et exploitation des stations d'épuration et de leurs annexes Document R 213 de la CNAM ▪ Risques d'intoxication présentés par l'hydrogène sulfuré Document R 220 de la CNAM ▪ Guide pratique de ventilation N° 19 – ED 820 (CNAM) ▪ Guide pratique de ventilation en espaces confinés N° 8 – ED 703 (CNAM) Fiches médico-techniques : ▪ Risque microbiologique et travail dans les stations d'épuration des eaux usées Fiche DMT N° 34 ▪ Fiche toxicologique : hydrogène sulfuré Fiche FT N° 32 ▪ Fiche toxicologique : oxyde de carbone Fiche FT N° 47	Recommandations pour le travail en station d'épuration des eaux usées urbaines et industrielles

1.6. DESCRIPTION DES PROCESSUS BIO-PHYSICO-CHIMIQUES DE LA METHANISATION

Ce paragraphe a pour objet de présenter les principaux mécanismes biologiques et physico-chimiques qui sont en jeu lors de la fermentation méthanique.

Les informations données résultent d'une synthèse succincte des connaissances acquises à partir de revues de synthèse ou d'ouvrages de références. Elles doivent nous permettre de mieux appréhender les avantages et limites de la méthanisation dans le traitement des produits organiques, dans un objectif de maîtrise des capacités de ce système microbien à jouer un rôle dans la dépollution de certains composés.

1.6.1. Schéma général de la digestion anaérobie

La fermentation méthanique se déroule naturellement en anaérobiose, dans les milieux pauvres en sulfates et nitrates et de faible potentiel redox. Son déroulement est l'œuvre d'un véritable écosystème microbien qui possède ses propres régulations. Les micro-organismes responsables de cette chaîne de transformations chimiques échangent des substrats et réalisent de véritables colonies mixtes où sont immobilisées ensemble les bactéries pratiquant hydrolyse, l'acétogénèse et la méthanogénèse. On parle d'«unités biologiques intégrées ».

On distingue généralement, quatre étapes dans la transformation, les deux premières sont souvent regroupées car effectuées par les mêmes populations de micro-organismes (Cf. schéma). Il s'agit des étapes :

Hydrolyse : les macromolécules sont coupées progressivement en monomères solubles par des enzymes extracellulaires (cellulases, hydrolases, amilases,…).

Acidogénèse : les monomères issus de l'étape d'hydrolyse, sont transformés en acides organiques et alcools avec une libération d'ammonium (NH_4^+), de dioxyde de carbone (CO_2) et d'hydrogène (H_2).

Acétogénèse : les produits de l'acidogénèse sont transformés en acide acétique (CH_3COOH) mais aussi en CO_2 et H_2, principaux substrats de la méthanogénèse.

Méthanogénèse : dernière étape au cours de laquelle est formé le méthane selon deux voies principales et distinctes, celle de l'acétate et celle du mélange H_2/CO_2.

Ces quatre phases sont étroitement liées mais présentent des cinétiques de réaction différentes. Selon le substrat de départ, la vitesse globale de transformation dépendra d'une éventuelle étape limitante. Comme présentée sur le schéma, la voie principale de formation du méthane provient de l'acétate. Il existe d'autres voies de formation à partir d'autres substrats (méthanol, formate,…) mais leur importance quantitative est négligeable par rapport aux deux voies précédentes.

1.6.2. Les étapes métaboliques

1.6.2.1. Hydrolyse et acidogénèse

Cette première étape est effectuée par un ensemble varié de microorganismes, la plupart anaérobies stricts. Généralement l'hydrolyse est le fait **d'enzymes extracellula-ires** qui libèrent des produits de poids moléculaire plus faible qui vont pénétrer dans la cellule où ils seront dégradés selon les voies classiques du catabolisme.

C'est la phase d'hydrolyse qui est souvent l'étape limitante dans la digestion anaérobie. Selon la nature biochimique du substrat, les vitesses réactionnelles vont varier.

✓ *Les glucides*

Pour les glucides, des variations importantes existent selon la nature du polysaccharide.

Donnons quelques exemples :

La **cellulose** : constituant majeur de la biomasse végétale, son hydrolyse est souvent une étape limitante de la digestion anaérobie. Homopolymère de β1-4D glucopyrannose, la cellulose est organisée en microfibrilles par des liaisons hydrogènes et son hydrolyse fait intervenir des mécanismes complexes. Les micro-organismes cellulolytiques identifiés sont des bactéries anaérobies strictes du type bâtonnet ou coque Gram-, auxquelles il faut ajouter les Clostridium. L'hydrolyse de la cellulose se fait à l'extérieur de la cellule bactérienne. On distingue classiquement quatre activités enzymatiques : activité endoglucanase (enzyme qui coupe au milieu des chaînes de cellulose), activité βglucosidase (hydrolyse en glucose des produits de la réaction précédente), et activité exoglucanase (coupure aux extrémités). L'hydrolyse de la cellulose est influencée par de nombreux facteurs : la présence de lignine, la nature cristalline de la cellulose, le pH, la température,…

Les **hémicelluloses** : leurs structures variées impliquent la mise en œuvre de différentes activités enzymatiques extracellulaires. Les oses simples libérés sont dégradés en pyruvate par la voie des pentoses.

La **lignine** : elle n'est pas dégradée en condition d'anaérobiose et est peut même être un facteur limitant voire inhibiteur de la méthanogénèse.

L'amidon : consituant des réserves des végétaux, il est composé de deux types de polymères de D glucose : un polymaire linéaire, l'amylose (α1-4D Glc), et un polymère ramifié, l'amilopectine (α1-6 D Glc). L'hydrolyse de l'amidon est réalisée par les enzymes généralement constitutives qui libèrent du glucose, lequel entrera dans la cellule et sera utilisé principalement par la voie de la glycolyse.

✓ *Les lipides*

La majorité des lipides est constituée de glycérol estérifié par des acides monocarboxyliques à longue chaîne (triglycérides) et/ou sur un des carbones par un groupement phosphate ou une molécule glucidique (phospholipides). Les bactéries lipolytiques des fermenteurs appartiennent essentiellement au genre Vibrio. Les composants des lipides sont dégradés par les voies classiques du métabolisme : les acides gras à longue chaîne sont transformés en écétate (b oxydation) et le glycérol entre dans la voie de la glycolyse. La vitesse de dégradation en fermenteur est très rapide, si bien qu'il faut surveiller de près une éventuelle baisse du pH.

✓ *Les protéines*

Les protéines sont constituées d'un assemblage d'acides aminés. Après protéolyse, ces derniers sont transformés en acides gras volatils, CO_2 et NH_3 par les réactions classiques de désamination, transamination et décarboxilation. La nature des acides gras ainsi formés dépend de la structure des acides aminés initiaux. Les produits formés sont les mêmes que ceux provenant de la dégradation des glucides, ils constituent un pool commun dégradé par les mêmes voies : fermentation du pyruvate, cycle de Krebs. Cependant, une forte proportion des acides aminés sont utilisés pour l'anabolisme, c'est-à-dire la synthèse protéique des bactéries plutôt que pour le métabolisme énergétique.

1.6.2.2. Acétogènèse

C'est pendant cette phase que sont produits, à partir des étapes précédentes, les **substrats principaux de la méthanogénèse** : acide acétique, $C0_2$ et H_2. L'acide acétique est un intermédiaire clé de la transformation de la matière organique dans l'environnement. De nombreuses bactéries sont capables de faire de l'acétate par fermentation et sont souvent qualifiés « d'acétogènes ». Il faudrait cependant réserver ce terme aux acétogènes stricts ou homo-acétogènes correspondant à une famille qui présente un type précis de métabolisme et des similitudes de caractère et d'habitat.

Pour simplifier, nous pouvons considérer trois types de populations bactériennes :

✓ *Les bactéries fermentatives*

Ce sont les bactéries participant à l'hydrolyse de la matière organique (Cellulomonas, Bacillus, Clostridium). Lorsque la pression en hydrogène est faible, ces bactéries peuvent orienter leur métabolisme vers la production privilégiée d'acétate.

✓ Les bactéries productrices obligées d'hydrogène (OHPA)

Lors de la dégradation de la matière organique, une grande partie des produits de la dégradation est constituée d'acides organiques (acide lactique, propionique, butyrique,…) et d'alcools (éthanol,…). Ces produits peuvent s'accumuler dans le milieu car leur dégradation dans les conditions standards en anaérobiose nécessitent de l'énergie (réactions endergoniques). Les OHPA transforment ces molécules en acide acétique lorsque la pression d'hydrogène est suffisamment faible. Elles agissent donc en symbiose avec les méthanogènes dont le rôle est d'éliminer l'hydrogène produit.

✓ Les bactéries homoacétogènes

Comme leur nom l'indique, ces bactéries produisent l'acide acétique comme seul métabolite. On distingue en général : les acétogènes vivant en autotrophie sur CO_2 et H_2, des bactéries hétérotrophes produisant de l'acide acétique, des formes mixotrophes passant selon les conditions du milieu d'un mode de production à l'autre.

1.6.2.3. Méthanogènèse

C'est l'étape finale et spécifique de la fermentation méthanique. Elle conduit à la **réduction du carbone en méthane** et elle est réalisée par des **micro-organismes très spécialisés**. Anaérobies stricts, ils appartiennent à un même groupe d'archaébactéries qui se subdivise en : méthanobactériales (Methanobacterium), méthanococcales (Methanococcus) et méthanomicrobiales (Methanomicrobium, Methanosarcina, Methanospirillum).

Il existe deux grandes voies de formation du méthane :

- La voie **acétoclastique** où l'acide acétique est transformé en méthane

  $CH_3COOH \rightarrow CH_4 + CO_2$

- La voie **hydrogénophile** où c'est le mélange CO_2/H_2 qui est utilisé

  $4\ H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + CO_2$

D'autres réactions existent à partir de différents composés comme le méthanol, l'acide formique, la méthylamine ou encore le diméthyl sulfure.

Les méthanogènes possèdent les caractères communs aux **archaébactéries** (absence de peptidoglycane dans la paroi cellulaire, coenzymes spéciaux, séquences particulières de l'ARM16S,…) et présentent des propriétés particulières (développement dans un milieu réducteur,…). Les méthanogènes vivent en association avec d'autres anaérobies qui leur fournissent les métabolites, elles épurent le milieu de l'hydrogène qui serait toxique en s'accumulant pour les acétoclastes.

1.6.3. L'enzymologie particulière des méthanogènes

1.6.3.1. Des cofacteurs spéciaux

Les méthanogènes sont des archaebactéries avec des particularités singulières au niveau de leur métabolisme enzymatique. Les connaissances sur la méthanogénèse se sont développées depuis peu et la biochimie des réactions nécessite encore d'approfondir certains mécanismes.

Tout le problème des méthanogènes réside dans la production d'énergie à partir des réactions de réduction successives amenant à la production de méthane. Chaque molécule de méthane apparaît au cours d'un cycle de réactions faisant intervenir une batterie de cofacteurs enzymatiques particuliers qui n'existent que chez les méthanogènes. La biochimie de ces réactions est complexe, nous ne rentrerons pas dans le détail des réactions impliqués.

Le tableau suivant fait une synthèse des cofacteurs spécifiques des méthanogènes (d'après J.Pelmont, 1993) :

Cofacteur	Rôle principal
Méthanofurane	Accepteur de groupe formyle après réduction du gaz carbonique
Tétrahydrométhanoptérine	Accepteur de formyle
Facteur F420	Accepteur de paire d'électrons (ressemble au FAD)
Facteur F430	Porphyrine contenant du nickel, fonctionne dans la réduction du groupe méthyle en méthane
Coenzyme M	Accepteur de méthyle
Composé B	Réduction de méthyle

Parmi ces composés, certains sont des éléments clés pour les réactions de dégradation de molécules comme les organochlorés ou certains composés aromatiques.

Par exemple, le F420 est un coenzyme flavinique qui peut fonctionner en association avec des enzymes variées comme des déshydrogénases pour la dégradation d'alcools. Le F430 est associé à des réductases intervenant comme catalyseur dans la réduction de composés organochlorés.

1.6.3.2. Des armes pour la dépollution

Les méthanogènes ont toujours été considérées comme un monde à part pour les microbiologistes pour deux raisons principales :

- leur « archaïsme » supposé en raison de la gamme restreinte de substrats métaboliques ;
- la difficulté à les cultiver et les étudier dans les conditions de laboratoire.

Cependant, **les potentialités de ces bactéries sont certainement beaucoup plus variées** qu'on pourrait le croire. L'amélioration des techniques permet de mieux appréhender les mécanismes en jeu.

Parmi les « armes secrètes » pour la dépollution, les **cofacteurs spécifiques** des méthanogènes sont souvent cités comme éléments clés de la dégradation de composés xénobiotiques (Pelmont, 1993 ; Bleicher, 1991). Prenons l'exemple des composés organochlorés grandes familles de produits utilisés dans différentes activités industrielles (peinture, solvant,…) et agricoles (herbicides,…). Certains de ces composés sont assez facilement dégradés par les organismes vivants, d'autres sont récalcitrants et peuvent s'accumuler dans l'environnement.

Les bactéries anaérobies utilisent des **mécanismes de réduction** pour assurer la dégradation de certains composés. Par exemple, le chloroforme est transformé en dichlorométhane qui s'accumule de façon transitoire avant de donner du chlorométhane lequel est recyclé dans la méthanogénèse pour donner au final du CO_2 et non du méthane. Le marquage au carbone 14 permet de suivre le cycle des carbones impliqués (Mikesell, 1990). Le cofacteur F430 permet de catalyser la réduction des composés halogénés en libérant l'hydrocarbure correspondant à partir du moment où les bactéries disposent d'une source d'électrons suffisamment réductrice (Methanosarcina barkeri en présence de CO comme donneur d'électrons. Krone, 1989).

Les coenzymes de type F420 des méthanogènes interviennent comme des déshydrogénases (Bleicher, 1991). Ainsi, il a été mis en évidence l'existence d'une large gamme d'alcools déshydrogènases induites en présence d'isopropanol qui s'attaquent à différents alcools. Les bactéries étudiées des genres Methanogenium et Métanobactérium, utilisent le F420 comme cofacteur enzymatique afin de réaliser les réactions de déshydrogénation réductrices.

Les potentialités des méthanogènes dans l'élimination des composés organiques chlorés sont manifestes : le trichloroéthylène, tetrachloroéthylène, bromoforme, phénoxyacétates (herbicides)… Les mécanismes en jeu sont souvent difficile à connaître en grande partie parce que ces organismes travaillent en association avec d'autres espèces, notamment les acétogènes. Les méthanogènes interviennent dans ce cas dans l'élimination de l'acide acétique formé. La dépollution résulte d'une association entre espèces bactériennes. Comme il est difficile de reproduire expérimentalement des cultures mixtes stables pour donner des résultats reproductibles, les connaissances dans ce domaine avancent lentement.

1.6.4. Les paramètres influençant la fermentation méthanique

1.6.4.1. La température

La fermentation anaérobie peut se dérouler entre 5 et 65°C. On définit classiquement trois plages de températures autour d'une valeur optimale relative :

- la zone psychrophile, de 4 à 25°C ;
- la zone mésophile, de 35 à 45°C ;
- la zone thermophile, de 55 à 65°C.

La première englobe les fermentations présentes dans les sédiments marins mais également les fosses septiques. La plus largement étudiée est la zone mésophile.

L'augmentation de la température entraîne une augmentation des vitesses de dégradation, en particulier de la phase d'hydrolyse, sans influence particulière sur la biodégradabilité ou le rendement en méthane car les voies métabolique restent les mêmes jusqu'à 65°C.

Au niveau des applications, une augmentation de la température peut permettre une amélioration des rendements de production. Ainsi, l'hydrolyse de la cellulose est 5 à 6 fois plus rapide en phase thermophile par rapport à la phase mésophile.

Notons également que le fonctionnement en phase thermophile (>55°C) entraîne inéluctablement une sélection des germes thermotolérants et donc un certain contrôle sur les populations bactériennes. C'est un point important qui sera développé par la suite.

Cependant, la fermentation méthanique étant faiblement exothermique, les conditions de température nécessaires pour un fonctionnement en zone mésophile ou thermophile, doivent être créées par un chauffage externe. La production de biogaz est généralement utilisée en partie à cette fin.

1.6.4.2. Le potentiel Red_Ox

La fermentation méthanique ne se déroule qu'en anaérobiose stricte, les populations méthanogènes et acétogènes étant les plus sensibles à l'oxygène et aux autres oxydants potentiels (nitrates, nitrites,…). Par ailleurs, la majorité des micro-organismes participant à la phase d'hydrolyse-acidogénèse sont des anaérobies facultatifs et permettent une élimination rapide de l'oxygène pouvant être présent dans le milieu.

Pour un développement normal des méthanogènes, on considère que le potentiel Red-Ox doit être inférieur à –330 mV.

1.6.4.3. Le pH et les équilibres tampons

✓ *Le rôle du pH*

La gamme des pH permettant un déroulement normal de la fermentation méthanique est liée aux conditions optimales de vie des micro-organismes responsables des différentes réactions métaboliques.

On observe des différences entre les populations bactériennes. Ainsi, les acétogènes sont les plus sensibles aux variations de pH (optimum de croissance de 7,2) alors que les méthanogènes peuvent accepter des variations de pH entre 6 et 8. Les bactéries acidogènes s'adaptent facilement à des pH aux alentours de 4.

Généralement, on considère que les variations doivent être maintenues dans une fourchette entre 6,4 et 7,8 pour que les fermentations soient stables.

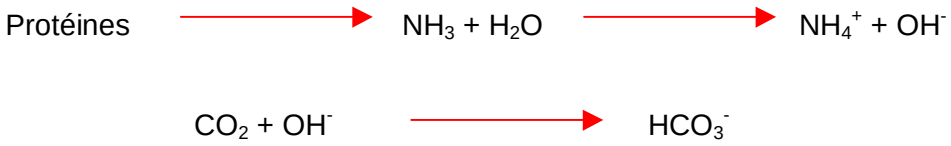
Le principal effet défavorable d'une baisse de pH est dû aux acides gras volatils (acides faibles) qui à des valeurs de pH bas se retrouvent sous forme protonée (non ionisée). Sous cette forme, les AGV peuvent pénétrer librement dans les cellules, par simple diffusion au travers de la membrane. Dans le cytoplasme, le pH est maintenu au voisinage de la neutralité. Les acides faibles libèrent alors leurs H^+, ce qui provoque une destruction du gradient électrochimique transmembranaire de proton. Ce dernier est le responsable du fonctionnement de l'ATPase, enzyme productrice d'ATP, source d'énergie pour l'ensemble des réactions métaboliques de la cellule.

La principale cause d'une baisse du pH est l'accumulation dans le milieu des intermédiaires de fermentation (acides gras volatils, acide lactique,…). Cette accumulation peut être due à différents phénomènes comme l'inhibition des étapes ultérieures ou la biodégradation trop rapide d'un substrat organique. Ce phénomène peut apparaître rapidement et conduit à un déséquilibre irréversible de la fermentation en absence d'un processus de régulation du pH. De plus, ce mécanisme peut s'auto-amplifier puisque qu'une diminution du pH limite les étapes ultérieures qui permettent une consommation des AGV.

✓ *La régulation du pH*

La régulation du pH est rendue possible grâce à la capacité tampon du milieu. Dans l'écosystème de la fermentation méthanique, cette régulation est assurée principalement par les bicarbonates (HCO_3^-) et dans une plus faible mesure aux ions phosphates (HPO_3^-).

A un pH voisin de la neutralité, la formation des ions HCO_3^- est principalement due à l'interaction entre les ions NH_4^+ provenant de la dégradation des protéines et le CO_2 dissous, suivant les réactions :



Ces ions permettent de neutraliser les acides organiques libérés.

Pour les méthanogènes et dans la majorité des cas, l'inhibition due aux AGV a un effet bactériostatique et non létal. Les réactions fermentaires peuvent reprendre normalement si le pH est maintenu au voisinage de la neutralité ; même après plusieurs jours d'arrêt. Par contre en absence de régulation, une inhibition de ce type conduit à un arrêt irréversible de la fermentation.

Ces mécanismes sont importants à connaître et à prendre en compte dans le fonctionnement d'un digesteur industriel. En effet, en absence de pouvoir tampon, le suivi du pH permet de contrôler une éventuelle acidification. Par contre, en présence d'un pouvoir tampon élevé (ce qui est souhaitable), la seule prise du pH est insuffisante pour prévenir une accumulation d'AGV. Le contrôle des bicarbonates, voire des AGV est rendu nécessaire.

1.6.4.4. La pression partielle en hydrogène

La pression partielle en hydrogène (H_2) joue un rôle déterminant dans le déroulement du processus de fermentation méthanique. C'est un paramètre clé pour le suivi du fonctionnement normal d'un digesteur anaérobie.

La production d'hydrogène est due en partie aux populations bactériennes fermentatives lors de la production d'acétate. L'hydrogène produit est fixé par le coenzyme NAD^+ ($NADH_2$), celui-ci doit se réoxyder pour permettre le bon déroulement des réactions métaboliques et la formation d'ATP. Lorsque la pression partielle en H_2 est trop élevée, le relargage de H_2 est rendu impossible car la réaction est endergonique.

Par ailleurs, les bactéries OHPA dégradent les alcools (éthanol,…) et certains acides gras (lactate, propionate, butyrate,…) en acétate avec une production d'H_2. Cependant, pour que ces réactions se déroulent (thermodynamiquement possibles), il faut que la pression partielle en hydrogène soit suffisamment faible.

On comprend que la pression en hydrogène joue un rôle fondamental dans le processus et conditionne le bon déroulement des réactions. Ce sont les méthanogènes qui régulent la pression partielle en hydrogène en l'utilisant au niveau de leur métabolisme. Elles aussi exigent une pression partielle faible pour un bon fonctionnement. Les différents auteurs s'accordent pour donner comme limite une pression partielle en hydrogène comprise entre 0,1 et 10 Pa.

1.6.4.5. Les besoins en nutriments

Pour leur activité, les micro-organismes ont besoin d'un apport équilibré entre les différents éléments (C,N,P,S) et les éléments traces intervenant dans les enzymes (métaux, vitamines). Cependant les populations anaérobies, du fait de leur faible production de biomasse, nécessitent moins d'éléments nutritifs que les populations aérobies. Le carbone contenu dans la matière organique est utilisé pour les besoins énergétiques et synthèse des nouveaux constituants cellulaires. La consommation en carbone est 15 à 30 fois plus importante que celle de l'azote. On admet généralement que le rapport optimal C/N doit être compris entre 20 et 30 et le rapport C/P entre 100 et 150.

Cependant, il faut mettre en parallèle ces rapports avec la biodégradabilité du substrat. Ainsi, un substrat facilement biodégradable pourra avoir un C/N bas tandis que s'il est composé de chaînes carbonées plus difficilement accessibles, son C/N devra être plus élevé.

D'autres éléments sont aussi indispensables aux méthanogènes comme le nickel par exemple qui entre dans la composition d'un coenzyme spécifique responsable de la formation de méthane.

1.6.4.6. Les inhibiteurs

Plusieurs inhibiteurs potentiels de la fermentation méthanique existent. Parmi les plus étudiés, on peut citer : les oxydants (oxygène, nitrates, sulfates,…) ; les acides gras volatils, les antibiotiques, l'ammoniac, les détergents , les facteurs de croissance,…

De nombreux autres composés peuvent être inhibiteurs potentiels à forte dose. Cependant, l'action inhibitrice d'un composé est liée à sa concentration ainsi qu'aux conditions physico-chimiques du milieu. Il est donc difficile de définir à priori une dose inhibitrice.

1.6.4.7. Les autres paramètres

✓ Le brassage

Même si le brassage n'est pas indispensable pour que s'instaure la fermentation, il permet une homogénéisation du milieu, d'augmenter les contacts entre bactéries et substrats et d'éviter les sédimentations. Une agitation trop violente peut cependant être à l'origine de perturbations au niveau des réactions d'hydrolyse notamment (réactions exocellulaires).

✓ Le process utilisé

Plusieurs process de fermentation méthanique existent et permettent de plus ou moins bien contrôler le processus. Il s'agit notamment des modes de remplissage, de vidange, du mode de brassage, du temps de séjour, de la température de fermentation, des prétraitements,…

2. Analyse documentaire

2.1. ETAT DES CONNAISSANCES

L'impact de la digestion anaérobie sur le devenir des agents à risque a fait l'objet d'investigations depuis de nombreuses années. Les principales sources de référence récentes disponibles en Français en font état.

Par exemple, les Actes des Journées Techniques sur l'épandage des boues résiduaires (ADEME, 5 & 6 Juin 1997) contiennent plusieurs articles qui s'y réfèrent, notamment Schwartsbrod :

- Citant Reyes (1963), Reimer (1991), Pike (1983), Fitzgerald (1981), Black (1982), la digestion anaérobie dite « thermophile » (30 j, 38°C), intermédiaire (45°C, ou 49°C pendant 10 à 20 j) est efficace sur les œufs d'helminthe. Par contre, la digestion « mésophile » ne l'est pas à 35°C pendant 10 à 20 j.
- D'après Kabrick (1979), Goddard (1981) et Palfi (1973), elle indique les taux de réduction de la digestion anaérobie mésophile et thermophile sur les virus entériques, sans donner les durées de rétention hydraulique.
- Elle consacre un paragraphe à l'effet de la digestion anaérobie sur les bactéries, un autre à ses effets sur les virus d'après notamment Bertucci (1977), Eisenhardt (1977), Sanders (1979).

On relèvera que les articles cités datent des années 1973 à 1983, à deux exceptions près, la plus récente datant de 1991. Par ailleurs, à la différence des techniques de chaulage et de compostage, la digestion anaérobie ne fait pas l'objet d'une communication à part entière lors de ce colloque.

L'étude réalisée par le cabinet Arthur Andersen pour le compte de l'organisme Inter-Agences de l'Eau, et portant sur le bilan comparé des différentes filières de gestion des boues urbaines, mentionne également plusieurs sources documentaires faisant état de travaux sur les impacts de la digestion anaérobie.

De même, l'avis rendu par le CSHPF mentionne les effets de la digestion anaérobie.

Ces travaux s'appuient cependant sur une documentation de même nature concernant cette technologie, à savoir une documentation qui prend mal en compte les travaux les plus récents menés dans d'autres pays européens.

Par ailleurs, ce travaux concernent principalement les boues d'épuration urbaines. La recherche sur la digestion anaérobie des autres types de substrats – lisiers, déchets municipaux…- est peu active en France.

Il convenait donc d'actualiser l'état de la documentation sur le sujet, qui a été considérablement renouvelée depuis dix ans, avec le développement de la digestion anaérobie pour le traitement des déchets organiques. Notamment, les installations centralisées de co-digestion de lisiers et autres déchets, au Danemark, ont fait l'objet de nombreux travaux d'études. Ces unités, qui font fonction de « banques à lisiers », se sont très tôt préoccupées des risques de dissémination des germes pathogènes.

Il n'est pas étonnant que, dans notre recherche documentaire, une grande partie des informations proviennent de sources danoises. Plus précisément, c'est du Danemark que provient la grande majorité des résultats au sujet des germes pathogènes, sur sites industriels fonctionnant en thermophilie ou en pré-pasteurisation suivie d'une digestion mésophile, ces deux options étant considérées comme aptes à hygiéniser les produits traités.

2.2. ACTIONS SUR LES PATHOGENES

2.2.1. Méthodologie

2.2.1.1. Les sources documentaires

Les sources documentaires concernant les germes pathogènes sont les plus nombreuses (voir schéma de répartition des sources documentaires en annexe 1) : 120 articles environ ont été analysés. Ces articles nous ont permis d'établir 127 informations complètes, donnant à la fois l'agent – la température – le temps de séjour – le taux d'élimination – le substrat – le type d'expérimentation (laboratoire / site réel).

Ils sont le fait, principalement, d'une vingtaine d'auteurs, avec en premier rang Bendinxen (39 informations), Olsen (25 informations), Kearney (10 informations).

- les deux-tiers proviennent de résultats de laboratoire ;
- les deux tiers portent sur la plase mésophile ;
- 75 à 80% des résultats sur sites industriels proviennent de la même source (Bendinxen), qui a travaillé principalement sur les installations danoises de co-digestion ;
- la grande majorité des information portent sur les lisiers. On dispose de très peu de résultats en sites industriels sur STEP urbaines.

	Digesteur industriel	Résultats laboratoire	Total
Mésophile	24	60	84
Thermophile	20	23	43
Total	44	83	127

La recherche documentaire ne prétend pas à l'exhaustivité. Cependant, il apparaît que la documentation reste relativement pauvre en ce qui concerne les résultats sur sites industriels pour des produits autres que les lisiers.

2.2.1.2. Types de résultats

Les résultats portent sur plusieurs types de données selon les sources :

- Dans la majorité des cas, le taux de réduction qui est indiqué en fonction du couple temps/température utilisé.
- Plusieurs sources donnent le T90 comme indicateur, il correspond à la durée nécessaire dans des conditions de milieu particulières pour que la densité initiale de germes pathogènes soit réduite de 90%, on parle aussi de temps de réduction décimale d'une population microbienne, ou de temps nécessaire pour abaisser d'une valeur de log cette population.
- Les données peuvent porter également sur le rapport entre différents germes : par exemple, nombre de coliformes / nombre de virus, avant et après digestion.
- Enfin, certains auteurs considèrent qu'un taux de réduction de 4 log10 du nombre initial de certains germes comme par exemple les entérocoques fécaux est témoin d'une bonne efficacité hygiénisante du traitement appliqué.

2.2.1.3. Difficultés d'étude de l'impact de la digestion anaérobie sur les pathogènes

Il est difficile de déterminer de façon précise l'impact de la digestion anaérobie sur les pathogènes, tout d'abord à cause de la grande variété d'espèces pouvant être rencontrées dans les différentes matières premières (Budley, 1980).

Plusieurs types de difficultés sont relevées quant à l'étude du devenir des pathogènes au cours de la digestion anaérobie, notamment la difficulté de dénombrement fiable des pathogènes :

- difficulté de détecter certaines bactéries pathogènes (Gadre, 1986), de détecter des virus qui sont adsorbés aux particules solides (Ward, 1976) ;
- grande variabilité quant à l'efficacité des méthodes d'isolement de certaines bactéries dans telle ou telle matrice, notamment quand des étapes de pré-enrichissement et/ou d'enrichissement sélectif sont nécessaires comme pour la recherche des salmonelles (Schlundt, 1993).

Une autre inconvénient majeur résulte de la difficulté de l'extrapolation des résultats de laboratoire aux réalisations industrielles (Olsen, 1985).

Plusieurs auteurs rapportent que les germes « ajoutés » dans les réacteurs de laboratoire sont moins résistants que les germes « natifs ». Ainsi, des virus incrustés sont mieux protégés que les cultures de virus ajoutés en une suspension libre (Lund, 1996). Le T90 de la population indigène est plus important que celui des souches de laboratoire (Kearney, Larkin, Levett, Frost, 1993). L'association aux particules solides confèrerait une protection aux virus (Mc Kain, 1987).

Malgré tout, les travaux de laboratoires peuvent dans certains cas s'avérer représentatifs du fonctionnement industriel : ainsi, d'après Olsen & Larsen (1987), le T90 de Salmonella typhimurium et Escherichia coli en digestion industrielle est comparable à celui des expériences à petite échelle.

Les auteurs ne précisent pas toujours dans quel contexte sont effectués les travaux de laboratoire. On relève par exemple des différences entre des réacteurs de laboratoire en alimentation batch (chargement unique du réacteur), en alimentation semi-continue (séquentielle), ou en alimentation continue. Ainsi, Kearney, Larkin, et Levett (1993) indiquent que la réduction des bactéries dans le lisier

est plus lente en alimentation séquentielle qu'en batch au cours d'une digestion à 35°C avec un TRH de 25 j. Certains auteurs obtiennent toutefois les mêmes résultats en batch qu'en digestion continue à 35°C pour les virus du lisier de porc (Mc Kain, 1987).

Pour les installations industrielles, la technologie est parfois mentionnée : on dispose de nombreuses références concernant les installations danoises centralisées de co-digestion (lisiers + autres déchets), de quelques unes portant sur les techniques indiennes ou chinoises.

2.2.2. Synthèse sur le devenir des agents pathogènes

2.2.2.1. Résultats de l'étude bibliographique

La présentation détaillée des résultats de l'étude bibliographique concernant le devenir en méthanisation des germes pathogènes (bactéries, virus et parasites) est reportée en annexe 4.

….

2.2.2.2. Les facteurs de réduction des pathogènes

Les facteurs de réduction des bactéries sont en principe :

- la température ;
- la teneur en solides ;
- le TRH ;
- la concentration en AGV ;
- le pH.

Cependant, pour les bactéries, Olsen et al. (1987) considèrent que les principaux paramètres sont le temps et la température : le type de lisier, la teneur en matières sèches, en azote, ou le pH, n'influencent pas l'impact de la digestion anaérobie sur les bactéries. Outre le temps et la température, le taux de réduction des pathogènes peut être influencé par le stockage, et par le procédé – par exemple dans un cas de boues de STEP en mélange avec des jacinthes d'eau (Fannin, 1984).

De même, Kearney et al (1993) ne mettent pas en évidence de relations entre le TRH, la concentration en solides ou en AGV avec le taux d'élimination des bactéries.

Pour les virus, d'autres facteurs semblent jouer : ainsi, l'agent d'élimination de F2 Coliphage est inconnu, mais peut être NH3 (Mateu, 1992). Il y aurait un rôle du pH, lié à l'augmentation de la teneur en NH3, sur les phages. Par contre, l'auteur confirme que les AGV ne sont pas des agents desctructeurs de virus.

Si la température semble la cause principale d'inactivation des oocystes dans les boues de STEP (Whitmore 1995), il semble que d'autres facteurs que la température et que l'absence d'oxygène peuvent être létaux aux oocystes : AGV, NH3, antibiotiques-like… (Lee, 1988).

2.2.2.3. Température, temps de séjour et taux d'élimination

De nombreux travaux comparent les plages mésophiles et thermophiles.

Signalons que la zone « mésophile » est parfois comprise au sens large, et certains expérimentations portent en réalité sur la plage psychrophile, autour de 25 à 30°C.

Inversement, les expérimentations décrites comme « thermophiles » peuvent atteindre des températures supérieures à 60°C.

Enfin, il existe des données dans des plages intermédiaires, entre 40 et 50°C.

Il est néanmoins évident selon ces travaux, que la zone thermophile assure des taux d'élimination bien supérieurs à ceux de la zone mésophile :

- Sur un digesteur thermophile (60°C) de 20 l avec un temps de rétention de 18 j, traitant des boues d'épuration et des ordures ménagères : élimination des salmonelles en 10 min , réduction des coliformes à 2.3 10^3 et des enterocoques de 1.7 10^2 (pour des concentrations initiales de 2.7 10^6 et 1.6 10^5). Les ascaris lumbricoides sont détruits en 20 min à 55-60°C (Glausser, 1985).
- Dans les même conditions, mais en plage mésophile (35°C) : les coliformes passent de 2.7 10^6 à 5.5 10^4 et les enterocoques de 1.6 10^5 à 3 10^3. Il n'y a plus de salmonelles en 48 h. Les ascaris ne survivent pas à 30 j à 38°C, mais quelques cestodes survivent à 41 j à 30°C. L'action de la digestion thermophile sur les bactéries fécales et sur les parasites est donc plus efficace que la digestion mésophile.
- La digestion thermophile permet une réduction de plus de 4 log10 des streptocoques fécaux alors que la digestion mésophile permet de réduire les streptocoques de 1 à 2 log10 (Bendixen, 1996)

En réalité, pour isoler le rôle de la température, il convient de comparer les taux de réduction pour des durées de séjour identique, les trois paramètres étant indissociables.

On remarquera :

- le faible impact de la digestion psychrophile (Salmonella typhymurium, Escherichia coli, Parvovirus porcin), qu'il convient donc de différencier rigoureusement de la plage mésophile ;
- l'effet sensible d'une hausse, même assez légère, de la température (de 55 à 61°C pour les coliformes par exemple).

2.2.2.4. Les germes résistants

Plusieurs agents pathogènes présentent des résistances particulières.

On peut citer comme résistant à la digestion thermophile :

- Bacillus cereus
- Clostridium

La liste des agents résistants aux conditions mésophile est un peu plus longue. S'y ajoutent :

- Parvovirus
- Entérovirus

Pour un certain nombre d'agents – notamment les parasites -, on ne dispose pas de suffisamment de références pour déterminer leur résistance. Ainsi, une seule source cite Métastrongylus, mais il s'agit d'une digestion à 24°C pendant 7 jours, qui ne peut donc prétendre à un quelconque effet hygiénisant. De même, les cestodes résistent à 40 j de digestion, mais à 30°C, donc en plage psychrophile.

2.2.3. Indicateurs de l'effet réducteur de la digestion anaérobie

Plusieurs germes sont proposés comme indicateurs, la plupart des auteurs préconisant les streptocoques ou les entérocoques, selon la plage de température.

2.2.3.1. Streptocoques et coliformes

Les streptocoques fécaux sont proposés comme indicateurs pour confirmer que l'effet réducteur sur les pathogènes est adéquat. Le produit final doit contenir moins de 100 streptocoques fécaux par gramme et pas de salmonelles par *25* grammes. La mesure des streptocoques fécaux permet d'obtenir l'uniformité dans le contrôle de l'assainissement.

Les streptocoques fécaux sont des indicateurs microbiens de 20-55°C (Bendinxen, Ammendrup 1992). Ils sont plus appropriés que les coliformes fécaux comme indicateur de la contamination fécale (El Abagay, 1984).

L'élimination de f2 coliphage peut être liée à l'élimination de certains virus entériques indigènes (Mateu, 1992). Cependant, le rapport Streptocoques/virus diminue de 1.4 fois ce qui fait des streptocoques, comme des coliformes, des indicateurs non quantitatifs mais qualitatifs des virus, surtout en mésophilie (Berg, 1980).

L'utilisation des enterococci comme bactéries indicatrices des bactéries végétatives est possible, et semble plus appropriée que E. coli (Olsen, 1984). Cette méthode est applicable aux installations industrielles de traitement des lisiers (Larsen, 1994).

Une réduction de 4 Log des Entérocoques indique une élimination de nombreux pathogènes : notamment les virus du BVD, de la rhino-tracheïte infectieuse bovine, de le maladie d'aujeszky, de la fièvre porcine classique, ainsi que des Salmonella et des œufs de parasites. Les œufs des ascaris les plus résistants ne sont pas éliminés, mais perdent de leur vitalité (Bendinxen, 1996). Les Entérocoques seraient également des indicateurs fiables pour mesurer l'effet sur les entérovirus (Lund, 1996).

La mesure des entérocoques fécaux est fiable dans les conditions thermophiles, mais pas dans les conditions mésophiles (Lund, 1996).

2.2.3.2. Les virus

Quelques auteurs préconisent les parvovirus comme indicateurs, car ils sont lentement inactivés en anaérobie (Lund, 1983). Cependant, le plus raisonnable est d'utiliser des virus moins résistants comme réovirus et picornavirus, qui représentent mieux les virus animaux pathogéniques (Lund, 1996).

Au delà de 60°C cependant, il faut un organisme indicateur plus thermoresistant (Bendinxen, 1994). Ce rôle pourrait être assuré par le parvovirus porcin dans la plage 50 – 80°C (Lund, 1996).

2.2.4. Les problèmes qui peuvent être rencontrés lors de la digestion anaérobie

2.2.4.1. Problèmes liés aux antibiotiques, additifs et désinfectants

Certains auteurs se sont posés la question de la conséquence de la présence d'antibiotiques, d'additifs et de désinfectants dans les déchets à traiter.

Sanz (1996) a testé 15 agents anti-microbiens sur des boues anaérobies provenant d'une fabrique de fécule d'amidon de blé dans un réacteur UASB. L'analyse des résultats porte sur les bactéries acétogènines, Archae méthanogène, et sur la production de gaz (indicateur du fonctionnement du digesteur).

Agent	Effet
Rifampicine	Inhibiteur de la polymérase RNA DNA dépendant. 2-3 j pour affecter la production de biogaz. Inhibe la digestion anaérobie au delà de 200 mg/l.
Bêta lactamines	Inhibiteurs de la paroi cellulaire. Entraînent une réduction de la digestion de 30-40% à 10 mg/l mais la réduction n'augmente pas à 500 mg/l. Cette réduction est liée à l'inhibition des bactéries consommant l'acide propionique et butyrique.
Streptomycine	Pas d'effet le premier jour ; A 50 mg/l inhibition de 35-40% de la production de biogaz.
Kanamycine, gentamicine spectinomycine	Pas d'effet sur la digestion.
Neomycine	Légère inhibition de 17-40% à 10-50 mg/l.
Chlortétracycline	Inhibiteur puissant de la digestion. Les bactéries méthanogénes acétoclastiques ne sont pas affectées au-dessous de 25 mg/l. A 200 mg/l, C2 n'est pas consommé Aux concentrations supérieures à 100 mg/l, les bactéries acétogeniques meurent. Peut causer une inhibition complète des bactéries méthanogénies acétoclastiques.
Doxycycline	Affecte seulement les bactéries dégradant les C4. On obtient une réduction de 25-45% de 10 à 100 mg/l.
Tylosine	Inhibe la production de méthane 35% à 25 mg/l et 45% à 250 mg/l. Elle entraîne une inhibition spécifique des bactéries dégradant C3-C4. Elle n'a pas d 'effet sur les méthanogènes acétoclastiques.
Erythromycine	Pas d'influence sur la production de méthane même à 250 mg/l.
Chloranphénicol	inhibe la digestion à basse concentration 50% à 15-20mg/l, 90% à 25mg/l, inhibition complète à 50mg/l

De même, Pöels (1984) a testé une quinzaine de produits, certains inhibiteur de la production de gaz, d'autres restant sans effets :

Inhibiteurs à haute concentration	Non inhibiteurs aux concentrations habituelles
Dettol	Tego 51
Créolin	Dettol
Bacitracine	Naoc 1
Virginiamycine	Créolin
	Chlortetracycline
	Tylosine
	Erythromycine
	Chloramphenicol
	Bacitracine
	Virginiamycine

Strauche (1985) confirme que les taux résiduels d'antimicrobiens n'ont pas d'activité sur la production lorsqu'il s'agit d'opérations prophylactiques de routine pour la désinfection des sols, murs et équipements dans les lieux de production des déchets traités. Il préconise de ne pas désinfecter à l'hydroxyde de Na 8% et au formaldéhyde >4%, et indique que Le Chloro disulfide de carbone entraîne une réduction de la production de gaz.

Certains auteurs relèvent que le traitement aérobie thermophile est plus influencé que l'anaérobie (Bohm, 1996),

2.2.4.2. Les autres sortes de problèmes

La réduction des pathogènes par la digestion anaérobie est souvent diminuée par le court-circuitage, et par la simultanéité de l'alimentation et du soutirage, surtout pour les digesteurs infiniment mélangés. Ceci peut être amélioré par un flux piston ou par le choix de procédé batch (Demynck, 1985).

Le traitement anaérobie ne semble pas augmenter le pourcentage de bactéries résistantes aux antibiotiques, il n'a pas d'influence sur la proportion coliformes fécaux sur coliformes fécaux antibio-résistants (Morozzi, 1988).

Les Salmonelles peuvent se multiplier dans la boue stérile s'il n'y a pas de compétition avec d'autres bactéries (Carrington 1982) ou avec d'autres micro-organismes (Gadre, 1986).

2.2.5. Recommandations

2.2.5.1. Classement des déchets

En France, l'arrêté du 30/12/91 relatif à la transformation des déchets animaux et régissant la production d'aliments pour animaux d'origine animale (J.O. du 12/02/92) spécifie le traitement des déchets animaux au vu du risque sanitaire associé. Ainsi, les déchets à hauts risques incluant les carcasses d'animaux ou parties d'animaux ou les produits d'origine animale considérés comme présentant des risques sérieux pour la santé des personnes ou des animaux, doivent être incinérés ou enfouis conformément à l'article 275 du code rural.

Plusieurs auteurs danois conseillent de :

- classer les déchets suivant leur charge en pathogène probable,
- ne pas admettre en installation collective les animaux morts, les matières pathogènes venues d'animaux malades, les déchets à risques des hôpitaux, cliniques humaines ou vétérinaires (Bendinxen, 1994) ;
- séparer les déchets contaminés et les orienter vers d'autres installations (incinération…) ;
- éviter les risques de contamination ;
- établir une surveillance des sources de déchets ;
- adapter les traitements en fonction de ces classements de déchets ;
- établir une surveillance avec des organismes indicateurs de réduction des pathogènes ;
- mesurer en continu température et durée de séjour (Bendinxen, 1994) ;
- pour un déchet non catalogué dans les différentes classes : demander, une autorisation spéciale aux autorités compétentes, incluant les exigences spécifiques pour l'assainissement et l'usage du produit ;
- restreindre l'écoulement du digestat s'il se produit une irrégularité dans le traitement.

Les déchets sont classés en plusieurs catégories au Danemark (Bendinxen, 1994, 1996) (Lund) :

- A : déchets des industries traitants des végétaux.
- B : eaux usées de production des poissons d'eaux douces.
- C : eaux usées et déchets d'établissementd de production animale.
- D : déchets ménagers.
- E : eaux usées.

Les déchets de classe C, D, E doivent être traités dans des installations spécifiques séparées.

2.2.5.2. Conditions d'hygiénisation

Les conditions d'hygiénisation recommandées différent selon les pays :

- conditions thermophiles - Suisse (Keller, 1983) ;
- digestion mésophile 12j à 35°C, suivie de 14j de stockage - Grande-Bretagne (Carrington 1991)

Au Danemark, les conditions d'hygiénisation par digestion anaérobie sont les suivantes :

- pasteurisation à 70°C pendant 1 h en cas de contamination lourde – Danemark ;
- système thermophile pour les déchets peu contaminés (lisiers, classes A et B) :
  - 2h à 55°C
  - ou 4h MRGT à 50°C et 48-72 h TRH
- système mésophile : traitement pré- ou post- assainissement et température adaptée à la classe des déchets :
  - A, B : 4 h MGRT à 55°C ou 8 h MGRT à 50°C et TRH 48-72 h.
  - C, D : 70°C pendant 1 h.

2.2.5.3. Efficacité de la pasteurisation

La pasteurisation permet de réduire l'activité des germes pathogènes :

- par pasteurisation à 60°C pendant 1 h sur coxsackievirus B3 (Eisenhardt, 1977) ;
- sur coxsakie B3 et poliovirus (Farrah, 1983) ;
- par pré-pasteurisation à 65-70°C pendant 30 min ou à 80°C pendant 10 min sur les œufs d'ascaris suum (Birbaum, 1985) ;
- par pasteurisation 70°C pendant 30min sur les salmonelles (Pike, 1980).

Cependant, la post-pasteurisation en particulier est contestée, car les boues digérées étant libres de germes il y a une croissance inévitable des pathogènes (Keller, 1983). Le même auteur considère que la pré-pasteurisation est une méthode efficace mais ne prévient pas la recroissance des pathogènes, et met en garde contre une utilisation imprudente de la pasteurisation.

2.3. ACTIONS SUR LES PHYTOPATHOGENES

Peu de données sont actuellement disponibles sur l'effet de la digestion anaérobie sur la survie de parasites végétaux.

Nos recherches bibliographiques n'ont permis de trouver que deux articles traitant spécifiquement du sujet. Les informations sont donc quasiment inexistantes comparées aux nombreuses publications relatives aux pathogènes animaux. Pourtant le sujet mériterait d'être étudié plus précisément notamment dans les cas où les effluents de méthanisation sont utilisés en épandage agricole.

Turner et ses collaborateurs (1983) ont travaillé en conditions de laboratoire sur la survie en condition anaérobie de trois phytopathogènes : un champignon (Fusarium oxysporum), une bactérie (Corynebacterium michiganense) et un nématode (Globodera pallida). Les expérimentations ont été faites sur de petits fermenteurs de laboratoire en utilisant comme substrat de digestion, soit des boues de station d'épuration, soit du lisier de porcs. Les fermenteurs étaient maintenus à 35°C tout au long de l'expérience. Après différents temps de séjour, les populations des différents germes ont été évaluées, soit par la méthode de dilution et d'estimation du plus grand nombre probable, soit par la mesure de l'ATP (luciferase test) dans le cas des nématodes.

Les résultats obtenus sont particulièrement satisfaisants. Concernant le champignon, il apparaît qu'en moins de 4 jours de temps de rétention, aucun germe ne peut être détecté avec la méthode employée. L'expérience renouvelée plusieurs fois a permis de valider l'efficacité du système anaérobie. Pour Corynebacterium, les résultats montrent une perte de 99,9% des pathogènes 5 jours après l'introduction. L'extrapolation de ce résultat laisse prévoir une complète élimination du germe après 7 jours de temps de rétention. Concernant la survie du nématode, il apparaît qu'après un séjour de 10 jours, plus aucun cyste n'est présent dans le milieu.

Cette étude montre bien l'effet de la digestion anaérobie sur la survie de germes phytopathogènes. Il semble qu'un temps de séjour minimum (10 jours) soit nécessaire pour éradiquer les populations génantes (les nématodes apparaissant les plus résistants) en condition mésophile (35°C).

En absence d'autres données sur cette thématique il est difficile de conclure quant aux conditions optimales de fermentation. Des études complémentaires devraient permettre d'approfondir le sujet et de valider ces aspects.

2.4. ACTIONS SUR LES ELEMENTS TRACES METALLIQUES

Contrairement au devenir en méthanisation des micropolluants organiques et des organismes pathogènes, les micropolluants métalliques ne subissent pas de dégradation, la concentration de ces éléments augmente donc au cours du procédé.

L'étude du devenir des métaux en méthanisation consiste donc à étudier la répartition de ces éléments entre les phases solides et liquides du déchet suite à leur passage dans le digesteur.

L'étude de cette répartition des éléments métalliques se justifie à deux niveaux :

- visualiser la biodisponibilité des métaux en réacteur (importance de la présence de métaux sous forme libre dans le milieu ; stimulation / inhibition des réactions de fermentation) ;
- connaître la répartition des métaux dans le produit en sortie de digesteur (répartition des concentrations selon les phases solides et liquides du produit digéré).

La répartition d'un métal est régie par sa forme chimique (spéciation) qui est elle-même régie par les conditions du milieu. Les conditions de la fermentation méthanique sont : un pH autour de la neutralité et un potentiel réducteur (Eh < 0). La répartition d'un micropolluant métallique entre ses formes solubles et insolubles est un phénomène dynamique qui dépend, au-delà des conditions physico-chimiques du milieu (pH, Eh, …), de la concentration initiale du polluant et de l'importance relative des réactions de complexation, d'adsorption et de précipitation, ainsi que de l'importance des mécanismes biologiques contribuant à l'enlèvement des formes libres présentes dans le milieu.

2.4.1. Biodisponibilité des métaux et déroulement des réactions de fermentation

2.4.1.1. Comportement en conditions anaérobies

Le devenir et le comportement des éléments traces métalliques en fermentation méthanique vont être essentiellement liés à leur état physique : état dissous ou état particulaire (colloïdal ou non). Parmi les paramètres pouvant jouer un rôle, le potentiel d'oxydo-réduction devrait contribuer fortement à réduire les éléments métalliques qui couplés avec le soufre provoquerait la formation de sulfures métalliques insolubles. Ainsi, les conditions du milieu fermentaire vont jouer sur la mobilité des ions métalliques et leur transfert entre phase liquide et solide des produits traités. Il convient de considérer cependant que cette immobilisation n'est pas définitive. Selon l'utilisation à posteriori de l'effluent de digestion et notamment selon les possibilités ultérieures de réoxydation, une transformation progressive des sulfures en sulfates entraînera une remobilisation des micro-polluants contenus dans la fraction solide du produit.

A noter également qu'une trop forte concentration en certains éléments peut nuire aux bactéries anaérobies, notamment en ce qui concerne le zinc et le nickel.

2.4.1.2. Rôles des micropolluants métalliques en digestion anaérobie

Selon Oleszkiewicz et Sharma (1989), les métaux jouent différents rôles en digestion anaérobie.

En particulier, ce sont :

- Rôles positifs :
  - des micro-éléments essentiels au déroulement des réactions enzymatiques (Eichenberger, 1984) ;
  - des inhibiteurs de la toxicité des sulfates ;
  - des stimulants des activités bactériennes au-delà du rôle d'activateur enzymatique (activité des méthanogènes (Takashima et Speece, 1988), agrégations bactériennes (Oleszkiewicz, 1989)).
- Rôle négatif :
  - des inhibiteurs et des éléments toxiques pour la biomasse microbienne.

Rôles positifs

Un certain nombre de métaux est essentiel au déroulement des réactions enzymatiques puisqu'ils entrent dans la composition de l'enzyme en tant que cofacteur métallique. En particulier, les métaux considérés comme les plus importants dans la digestion anaérobie sont les métaux de la famille du Fer, soient le Fer, le Nickel (Ni) et le Cobalt (Co).

Pour exemples :

Le fer entre dans la composition des cytochromes et de la ferredoxine hydrogénase (Brock et al., 1984) et joue un rôle important dans l'obtention de conditions réductrices (Takashima et Speece, 1988).

Le Ni est utile à la synthèse du Coenzyme A et du facteur F430. Il est également utile au déroulement des réactions de déshydrogénation (Thauer et al., 1980, Hausinger, 1987).

Les métaux sont inhibiteurs de la toxicité des sulfates par précipitation de sulfures métalliques qui permet de diminuer la concentration en ions sulfates dans le milieu réactionnel en-deçà des valeurs inhibitrices.

Ces métaux jouent également un rôle dans l'agrégation de la biomasse en digesteur à biomasse en suspension. Ils sont utiles au déroulement des réactions de biodégradation par mise en relation des populations fermentaires et de la matière à dégrader. Le fer, en particulier, joue un rôle important dans ce domaine par l'intermédiaire de la formation de précipités avec les sulfates (Dubourguier et al., 1987 ; Kosaric et al., 1987). Il favorise également la production de polymères extracellulaires qui améliorent la granulation (Palns et al., 1987).

Rôle négatif

A des concentrations élevées, les métaux sont inhibiteurs des réactions biologiques par action sur le fonctionnement enzymatique des populations. L'inhibition est généralement non spécifique, réversible et non compétitive. Le mécanisme de toxicité mis en jeu consiste en une fixation du métal sur un des groupements fonctionnels des acides aminées constitutifs de l'enzyme ou du coenzyme (groupement acide -COOH, ou groupement sulfure -SH).

Hayes et Theis (1976) ont travaillé sur des concentrations croissantes de métaux de boues de station d'épuration en digestion anaérobie. Les digesteurs utilisés ont une capacité de 15 litres. Il s'agit de digesteurs mésophiles ayant un temps de rétention de 10 jours. L'étude porte sur le Chrome (CrIII et CrVI), le Cuivre et le Nickel. Ils définissent dans leur protocole une concentration en métal comme toxique lorsqu'elle entraîne une réduction de 80% de la production de gaz. Les concentrations en métaux entraînant un effet toxique ou inhibiteur varient d'un type de métal à un autre.

Métal	**Alimentation progressive**		**Alimentation « pulsée »**
	Concentration inhibitrice (mg/l)	Concentration toxique (mg/l)	Concentration toxique (mg/l)
Chrome (VI)	130	260	< 200
Chrome (III)	110	420	< 180
Cuivre	40	70	< 50
Nickel	10	30	> 30

Les auteurs proposent ainsi un ordre décroissant de toxicité suivant le métal considéré :

Ni > Cu >> Cr(VI) = Cr (III)

Le mode d'apport apparaît également important. Contrairement à un apport « pulsé » (en une seule fois), un apport progressif permet une acclimatation des micro-organismes à l'augmentation de la concentration en métal. L'acclimatation est un terme générique qui regroupe un ensemble de mécanismes. Un de ces mécanismes consiste en une stimulation et une expression de gènes en dormance. D'autres mécanismes mettent en jeu des moyens de défense intracellulaire, de transfert de plasmides et de mutation des populations bactériennes (Oleszkiewicz et Sharma, 1989).

Le temps laissé aux populations bactériennes pour s'adapter à des conditions de stress en digesteur sont dépendantes du temps de rétention hydraulique (TRH). Les travaux menés par Bailey et al. (1970) sur l'effet toxique du Chrome sur des boues de station d'épuration en laboratoire montrent que plus le TRH est important, plus la concentration supportée par le milieu est élevée. Un TRH de 21 jours permet de faire face à une concentration en Chrome de 300 mg/l, alors que des TRH moins importants entraînent un arrêt de la fermentation à des concentrations plus faibles (ex : inhibition à 50% de la fermentation à une concentration de 200 mg/l pour un TRH de 17 jours).

Toutefois, l'effet d'un métal sur les réactions biologiques est réversible. Les métaux n'ont donc pas d'effet bactéricide mais bactériostatique.

La température joue également un rôle dans la toxicité des micropolluants métalliques. En milieu thermophile, la biomasse microbienne est plus sensible à l'effet toxique des métaux qu'en milieu mésophile (Macleod et Forster, 1988).

Des expériences menées en digesteur de grande taille (échelle industrielle) montrent que ces réacteurs sont capables de fonctionner à des concentrations en métaux plus élevées que celles admises à partir de travaux en culture pure (essais de laboratoire) (Oleszkiewicz et Sharma, 1989). Les travaux menés par Morper et Linde (1984) sur le traitement en digesteur UASB de vinasses montrent qu'un déchet initialement chargé à 20 mg/l de Cuivre ne pose pas de problème d'inhibition de la fermentation grâce à la présence dans les vinasses de molécules organiques formant des liens avec le cuivre (acide tartrique, acide malique, …).

La différence de comportement des digesteurs de taille industrielle réside dans l'existence au sein de ces réacteurs de mécanismes de précipitation et de complexation ainsi que des mécanismes d'acclimatation des populations bactériennes qui diminuent le caractère toxique des micropolluants présents dans les déchets par enlèvement des métaux présents en solution dans le milieu. Seule la forme libre du métal comporte en effet un risque de toxicité et la concentration en métaux solubles dans un digesteur ne représente en général que 0,5 à 4% de la concentration totale en métaux (Anon, 1965 ; Hayes et Theis, 1978 ; Patterson et Hao, 1979).

La concentration en métaux libres dans le milieu sera fonction de la concentration initiale du métal et des conditions environnementales affectant la spéciation. La partie qui suit a pour but de mieux comprendre l'ensemble des mécanismes intervenant dans la répartition d'un métal entre ses différentes formes chimiques au sein d'un digesteur (formes précipitée, adsorbée, complexée, …). Cet ensemble de mécanismes contribue à la diminution de la concentration des métaux libres dans la solution et par là-même à la diminution des effets toxiques des métaux présents dans les déchets en entrée de réacteur. Enfin, l'étude de la part relative des mécanismes permettant l'enlèvement des métaux libres dans le milieu permet de visualiser la répartition des micropolluants métalliques dans les effluents en sortie de digesteur.

2.4.2. Devenir des micropolluants métalliques en digestion anaérobie

Les facteurs influençant le devenir en méthanisation des métaux peuvent être résumés ainsi (Oleszkiewicz et Sharma, 1989) :

- conditions physico-chimiques,
- historique du digesteur (exposition préalable ou non à des concentrations inhibitrices),
- âge des cultures bactériennes,
- type et concentration du métal,
- mode d'exposition (en une seule fois (aiguë) ou de façon répétée (chronique)).

Le taux d'enlèvement des métaux sous forme libre détermine le caractère toxique ou inhibiteur du métal considéré (Wood, 1986).

Le devenir en méthanisation des micropolluants métalliques est fonction :

- de mécanismes externes à la cellule (adsoprtion, précipitation et complexation),
- de mécanismes intracellulaires (activation de mécanismes de défense par les populations microbiennes).

2.4.2.1. Mécanismes extracellulaires d'enlèvement des métaux :

L'importance de ces mécanismes est fonction des paramètres de fermentation : température, pH, type de réacteur et apport du substrat.

Les principaux mécanismes se déroulant hors de la cellule sont l'adsorption, la précipitation et la complexation à des composés organiques ou inorganiques.

- L'importance du mécanisme d'adsorption est proportionnelle à la quantité de matière solide présente dans le déchet. Toutefois, le mécanisme reste encore mal connu. Différents auteurs (Gould et Genetelli, 1984 ; Alibhai et al., 1985) pensent qu'il s'agit d'un mécanisme de chimiesorption par des groupements fonctionnels d'acides organiques. Le phénomène est réversible à pH acide par échange ionique avec les protons présents en excès dans le milieu. Les métaux ont des affinités différentes vis à vis de l'adsorption. Concernant les boues de station d'épuration, Patterson et Hao (1979) proposent l'ordre décroissant d'affinité suivant :

$$Pb > Cu > Cd > Fe = Ni > Zn$$

Un ordre en partie vérifié par les résultats obtenus par Gould et Genetelli (1984) :

$$Cu > Cd > Zn > Ni$$

- La précipitation met en jeu la formation de sulfates ou de carbonates de métal (ex : sulfate de fer, sulfate de zinc, …) qui précipitent dans le domaine de pH existant en réacteur (pH autour de la neutralité). Dans les conditions réductrices prévalant en digesteur anaérobie, les ions sulfures (forme réduite des ions sulfates) sont le principal agent précipitant utilisé pour précipiter les métaux lourds en pilote de laboratoire et en digesteur industriel (Masselli et al., 1967).
- La complexation des métaux avec des composés organiques ou inorganiques met en jeu la formation de ligands. Les travaux menés par Flechter et Beckett (1985) à partir d'échantillons de boues de station d'épuration digérées (DA) montrent que la matière organique dispose de deux types de sites d'échange :
    - un premier groupe capable de se lier à tous les types de métaux (Cu II, Mg II, Co II, Ni II, Zn II, Mn II, Pb II et Fe II) ;
    - un deuxième groupe qui ne permet la formation de liaisons qu'avec le Cuivre (II), le Plomb (II) et les protons (H+). Pour un pH compris entre 5,7 et 7, les auteurs proposent un ordre décroissant d'affinité des ligands pour les métaux :

$$H>> Pb > Cu > Cd > Ni > Zn = Fe > Co = Mn > Ca > Mg$$

Leurs travaux plus particuliers sur le devenir du Cuivre en méthanisation ont montré que la complexation de cet élément avec la matière organique soluble permet un enlèvement de près de 99% du Cuivre à un pH > 7. Alors que cet enlèvement n'est que de 14% à un pH de 5. La complexation résulte en un échange des métaux (cations) avec des protons présents sur des sites disponibles de la matière organique soluble. Les formes de cuivre non complexées sont essentiellement des formes chlorées (CuCl) ou hydroxylées (Cu(OH) et $Cu(OH)_2$).

2.4.2.2. Mécanismes intracellulaires d'enlèvement des métaux :

Le stress engendré par la présence de métaux dans le milieu entraîne au niveau cellulaire la mise en place de différents systèmes de défense : précipitation et complexation induites par l'activité biologique, biométhylation, exocytose et moyens de résistance développés par les plasmides. L'ensemble de ces mécanismes correspond à une activité cellulaire visant à diminuer le caractère toxique des métaux présents dans les déchets (détoxification).

- La précipitation engendrée par l'activité biologique est liée à la production par les enzymes bactériennes (sulfates réductases contenues dans la membrane cellulaire) de sulfures qui vont précipiter les métaux à la surface cellulaire (Wood, 1984). Wood et Wang (1983) ont montré que les cyanobactéries peuvent ainsi accumuler jusqu'à 3.000 fois la concentration en Ni présente dans la solution.
- L'activité biologique assure également la complexation des métaux par la synthèse de ligands extracellulaires (Wood, 1984). Pavoni (1970) a démontré que des molécules extracellulaires de haut poids moléculaire synthétisées par les bactéries (polysaccharides, protéines, acide ribonucléique) fournissent de nombreux sites d'échange (groupements fonctionnels) pouvant former des liens avec les métaux présents dans le milieu.
- La biométhylation du mercure est un mécanisme de détoxification (le mercure n'a pas de fonction biologique) et non le résultat d'un procédé de biotransformation lié à l'activité métabolique (Summers, 1986). Le processus s'équilibre de la manière suivante :

$$Hg^0 \leftrightarrow Hg^{2+} \leftrightarrow CH_3Hg^+$$

Ce mécanisme a également été mis en évidence pour le Hg, Pb, Tl, Pd, Pt, Au, Sn, Cr, As et Se. L'importance de la biométhylation en digesteur anaérobie n'a pas été clairement établie (Lingle et Hermann, 1975).

- L'exocytose correspond à l'expulsion du métal hors de la cellule après inactivation de celui-ci. Les cellules réalisent la synthèse de biopolymères capables de piéger les métaux dans les vacuoles (Wood, 1984). Dans un second temps, ces biopolymères assurent le transport des métaux hors de la cellule. Le mécanisme est connu pour le Cu, Zn, Fe, Ni, Co, Mo, Cd et Hg (Wood, 1984). Une telle opération nécessite toutefois au préalable une adaptation des populations microbiennes et une mutation des espèces. Le mécanisme est non sélectif.
- Les plasmides correspondent à du matériel génétique extrachromosomal. Dans le cas d'un stress engendré par la présence de métaux, ces plasmides sont reconnus pour assurer la résistance cellulaire à la toxicité des métaux (Wood et Wang, 1983). Cette propriété peut se transférer d'une bactérie à une autre au moyen de "facteurs R" (Brock et al., 1984). Toutefois, ce mécanisme n'a pas été étudié dans le détail en méthanisation puisque la présence de plasmides a été démontrée uniquement chez trois espèces de bactéries méthanogènes (Jones et al., 1987).

2.4.3. Répartition des métaux en sortie de digesteur

Hayes et Thais (1976) ont travaillé sur la répartition en digesteur pilote (15 litres) de différents métaux entre 4 fractions de boues de station d'épuration (soluble, insoluble, intracellulaire et extracellulaire).

La répartition obtenue est la suivante :

- moins de 1% des métaux se retrouvent en milieu extracellulaire ;
- 1 à 3% sont sous forme soluble ;
- plus de 50% sont contenus dans la fraction insoluble des boues ;
- 30 à 60% des métaux sont accumulés dans le milieu intracellulaire.

L'importance de l'accumulation intracellulaire a permis de mettre en évidence que la précipitation n'est pas le phénomène majeur d'enlèvement des métaux en digestion anaérobie. L'enlèvement des métaux lié à l'activité biologique joue un rôle important et entre notamment en compétition avec la précipitation. Il a également été démontré que l'affinité de la biomasse pour les métaux est plus importante que l'affinité des composés organiques présents dans le milieu (Ghosh, 1972).

Des travaux menés par ailleurs viennent conforter ces résultats :

- Les concentrations en métaux solubles représentent de 0,5 à 4% de la concentration totale des métaux (Anon, 1965 ; Hayes et Theis, 1978 ; Patterson et Hao, 1979).
- L'étude menée par Gould et Genetelli (1975) sur 9 métaux lourds a montré que 90% de ces métaux se retrouvent au sein de particules de taille supérieure à 100 micromètres (fractions supracolloïdales et particulaires).
- Les résultats obtenus par Morper et Linde (1984) en digesteurs de 5 litres (TRH de 24 heures, température de 16°C, durée du test = 8 mois) à partir d'eau usée de synthèse enrichie en métaux

lourds et sulfate de sodium (source de sulfures) montrent, après passage en réacteur, la répartition suivante selon le métal considéré :

Métal	% de métal dans la phase liquide	% de métal dans la phase solide
Cu	0,5	99,5
Ni	0,2	99,8
Cr	25	75
Zn	0,2	99,8
Hg	0,5	99,5

L'objectif des auteurs étant de mettre en évidence le rôle de la précipitation dans l'enlèvement des métaux, il apparaît que, dans les conditions opératoires mentionnées plus haut :

- le Cu, Ni, Zn et Hg sont déplacés à plus de 99,5% dans la phase solide du déchet par précipitation ;
- l'enlèvement du chrome n'est pas lié à un mécanisme de précipitation.

L'ensemble de ces résultats montre, en digestion anaérobie, un net déplacement des métaux solubles vers des formes insolubles inclues dans la phase solide du produit traité.

2.4.4. Synthèse sur le devenir des éléments traces métalliques

La majorité des travaux porte sur les boues issues du traitement des eaux usées (urbaines et industrielles). Il s'agit essentiellement de travaux menés en digesteur de laboratoire (taille pilote) ou de travaux menés sur des échantillons de boues issues de digesteur de taille réelle. De nombreux articles portent sur des travaux fondamentaux concernant la recherche des mécanismes de toxicité et les modalités de fixation des métaux aux divers supports organiques et inorganiques présents dans le milieu.

Au sein d'un réacteur, les métaux peuvent stimuler la méthanogénèse, améliorer la granulation et éliminer les toxiques mais aussi avoir des effets inhibiteurs. La différence tient à la concentration du métal, au type de métal et à sa spéciation. La spéciation est déterminée par les conditions de fermentation du milieu et la présence (type, quantité) de constituants organiques et inorganiques dans les déchets à traiter ainsi que l'importance relative de l'enlèvement des formes solubles liées à l'activité bactérienne.

Concernant l'effet potentiellement toxique ou inhibiteur des métaux en digestion anaérobie, il apparaît que :

- La concentration totale en métaux en entrée de digesteur n'apporte aucune information sur la potentielle toxicité du métal puisque seule la forme libre du métal (forme biodisponible) peut entraîner des problèmes dans le déroulement de la fermentation.
- L'effet induit par la présence des métaux est bactériostatique et non bactéricide.

- En digesteur de taille réelle, les différents travaux montrent que le milieu fermentaire peut supporter des concentrations potentiellement inhibitrices pour des populations en culture pure et ce grâce :
    - d'une part, à la capacité des populations bactériennes à s'acclimater à des concentrations élevées en métaux. En particulier, un long temps de rétention (TRH) permet de compenser la diminution de croissance bactérienne liée à la toxicité d'un métal ;
    - d'autre part, à l'ensemble des mécanismes contribuant à l'immobilisation des métaux sous des formes insolubles non disponibles pour les populations microbiennes. Ainsi, la présence de composés solides en suspension (offrant des surfaces d'échange et des ligands organiques et inorganiques) est une protection vis à vis d'une augmentation de la concentration en métal dans le milieu.

Au vu des éléments mentionnés ci-dessus, le comportement d'un digesteur face à des concentrations élevées en métaux sera fonction :

- du type de substrat traité (types et concentrations en métaux et composés organiques et inorganiques) ;
- des paramètres de la fermentation (TRH, température ; taux de charge, …) ;
- de la variabilité des populations microbiennes et de l'historique du digesteur.

Pour ce qui est de la répartition des métaux en sortie de digesteur, il apparaît clairement que la majeure partie des micropolluants métalliques s'accumule dans la phase solide de l'effluent (inclus dans des solides organiques ou inorganiques insolubles).

2.5. ACTIONS SUR LES MICROPOLLUANTS ORGANIQUES

On distingue 3 grands groupes de micropolluants organiques :

- les composés aliphatiques (halogénés) ;
- les composés aromatiques monocycliques ;
- les composés aromatiques polycycliques (PAH, dioxines, …).

Il s'agit de composés organiques généralement présents en faible quantité dans les déchets (de l'ordre du µg/l). Il peut toutefois s'agir de composés à risque pour l'environnement et/ou inhibiteurs de la fermentation.

Les résultats trouvés dans la littérature concernent différents types de substrat (eaux souterraines, eaux usées, boues de STEP, sédiments).

2.5.1. Conditions expérimentales d'étude

Les études recueillies correspondent à des expérimentations menées en fermenteurs de petit volume (batch).

Les conditions généralement rencontrées dans les études sont les suivantes :

- batch placé en milieu sans lumière (évite le développement d'une flore photosynthétique) ;
- température de fermentation = 35 à 37°C (domaine mésophile).

Deux types de batch sont généralement utilisés :

- un batch auquel est ajouté du sodium azide (blocage des réactions biologiques) ;
- un batch sans sodium azide (déroulement des réactions chimiques et biologiques).

La chromatographie permet l'analyse des molécules organiques présentes dans les déchets (qualitatif et quantitatif) avant et après l'étape de fermentation anaérobie.

Le marquage au carbone 14 (^{14}C) permet de suivre le devenir d'une molécule au cours des étapes de dégradation : transformation de la molécule en sous-produit ou dégagement sous forme gazeuse ($^{14}CH_4$, $^{14}CO_2$).

2.5.2. Risques d'inhibition de la fermentation

La présence de micropolluants organiques peut être néfaste aux réactions de biodégradation soit par modification des conditions du milieu (pH, potentiel rédox, …), soit par action directe sur l'activité bactérienne (diminution des populations fermentaires).

Aucun des articles ne met en évidence de problèmes d'inhibition de la fermentation.

Dans le cas des boues de STEP, l'inhibition potentielle de la digestion anaérobie par les micropolluants organiques résulterait en une boue dont on ne peut envisager l'épandage sur des terres agricoles (Johnson, L.D., Young, J.C., 1983).

Johnson et Young (1983) ont montré que le 2-chlorophénol n'est pas inhibiteur de la dégradation anaérobie jusqu'à une concentration de 100 mg/l dans les boues de STEP.

Le cas particulier de l'industrie chimique et pétrochimique met en jeu des concentrations particulièrement élevées en composés organiques si ceux-ci entrent directement dans le processus de fabrication ou de traitement des matériaux.

En conséquence, l'installation d'unités de pré-traitement s'avère nécessaire, sans quoi ces composés ne seraient pas directement méthanisables en raison de leur pouvoir toxique. Les techniques d'oxydation électrochimique (Pulgarin *et al.*, 1994), chimique (Koyama *et al.,* 1994) et photochimique (Yi *et al.*, 1994) ou bien encore d'ozonisation (Wang, 1990), en modifiant la structure des molécules (rupture des cycles aromatiques, des chaînes polymériques, introduction d'oxygène), permettent par exemple, d'augmenter la biodégradabilité et de diminuer la toxicité des effluents.

Parfois, un ajustement du pH suffit à diminuer la toxicité d'un composé. Ainsi, le formaldéhyde qui est fortement toxique à cause de son pouvoir dénaturant des protéines, se transforme à pH élevé (11-12) en un mélange de sucre, de méthanol et d'acide formique. Malgré tout, certaines inhibitions peuvent persister et nécessitent l'adaptation du circuit de fermentation. La dégradation des acides téréphtaliques et p-toluiques est inhibée en présence des acides benzoïques (Klerebezeem, communication personnelle) et acétiques (Macarie et Guyot, 1992).

2.5.3. Devenir des micropolluants organiques en méthanisation

2.5.3.1. Cas des composés aliphatiques

Les composés aliphatiques halogénés sont pour la plupart des composés de faible poids moléculaires solubles dans la phase liquide du déchet.

Certains de ces composés sont volatils et donc considérés comme des COV (Composés Organiques Volatils). On citera pour exemple le tétrachloroéthène, le trichloroéthène et le chloroforme (CF).

L'étude menée par Bouwer et Mc Carty (1983) avec des molécules aliphatiques halogénées possédant 1 à 2 atomes de carbone et à des concentrations proches de celles rencontrées dans l'eau potable et dans les eaux souterraines (10 à 200 µg/l) a mis en évidence la biodégradabilité de ces composés.

Le mécanisme de transformation peut-être chimique et biologique ou uniquement biologique.

La coexistence de mécanismes de dégradation chimique et biologique est valable dans le cas des molécules aliphatiques dont l'halogène est du brome (Br).

La transformation biologique est toutefois la plus répandue. Elle est sensible au temps d'acclimatation des populations bactériennes aux molécules à dégrader. Ainsi, les molécules de 1,2 dichloroéthane (1,2 DCE) ; chloroforme (CF) et tétrachlorocarbone (CT) sont entièrement dégradées par voie biologique mais avec des temps d'acclimatation différents. En particulier, la dégradation du 1,2 DCE se fera avec un temps de retard par rapport aux dégradations du CF et du TC. Le temps de retard correspond au développement de l'espèce fermentaire capable d'utiliser le 1,2 DCE comme substrat de fermentation.

Le mécanisme de transformation biologique mis en évidence est une réaction de déhalogénation réductrice. Cette opération consiste en un enlèvement progressif des atomes d'halogènes à la chaîne carbonée.

Exemple : réaction de déhalogénation réductrice du CT :

$$CCl_4 + 2H_2O \rightarrow CO_2 + 4H^+ + 4Cl^-$$

Dans le cas de molécules de poids moléculaire plus élevé, les auteurs ont mis en évidence l'existence d'intermédiaires de fermentation. Par enlèvement d'une atome de chlore, le TCE (trichloroéthylène) est un intermédiaire de fermentation du TECE (tétrachloroéthylène).

Ainsi, selon le type de molécule considéré, cette déhalogénation réductrice peut conduire à la production de biogaz (CH_4 et/ou CO_2) ou à la formation de sous-produits présents dans le batch en fin de fermentation.

Les dégradations biologiques du CF et du 1,2 DCE sont complètes et conduisent à la production de CH_4 et de CO_2 selon les réactions suivantes :

$$\text{(CF)} \quad CHCl_3 + \frac{3}{2}H_2O \leftrightarrow \frac{3}{4}CO_2 + \frac{1}{4}CH_4 + 3H^+ + 3Cl^-$$

(1,2 DCE) $C_2H_4Cl_2 + \frac{3}{2}H_2O \leftrightarrow \frac{3}{4}CO_2 + \frac{5}{4}CH_4 + 2H^+ + 2Cl^-$

Cette étude conclut que les composés halogénés possédant 1 à 2 atomes de carbone sont biodégradables à plus de 90% par voie fermentaire anaérobie en un temps de séjour de 2 jours en flux continu avec l'acétate comme premier substrat.

Dans le cas du traitement des effluents de l'industrie chimique et pétrochimique, Macarie (1992) donne une liste non exhaustive des composés aliphatiques dégradables par fermentation méthanique (voir tableau récapitulatif en annexe 5).

2.5.3.2. Cas des composés aromatiques monocycliques

Ces composés regroupent les molécules aliphatiques ne possédant qu'un seul noyau aromatique dans leur composition chimique.

Parmi ces molécules, on distingue :

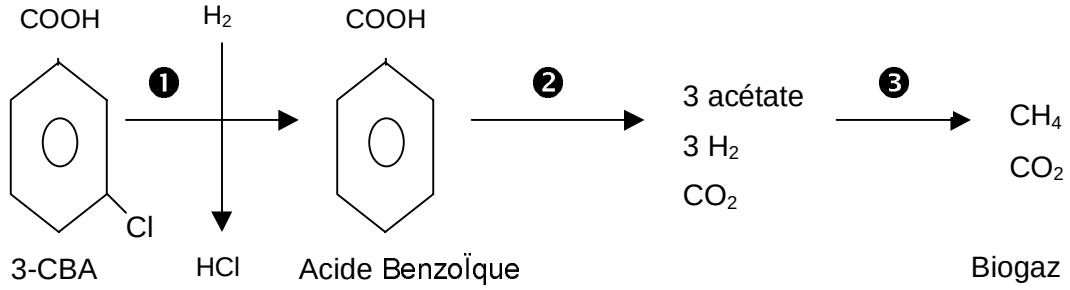
- les hydrocarbures aromatiques monocycliques (H.A.M.) tel que le benzène qui est volatil et donc considéré comme un COV (Composé Organique Volatil) ;
- les composés aromatiques monocycliques halogénés dont un ou plusieurs atomes d'hydrogènes ont été substitués par des atomes d'halogènes (Chlore, Brome, …).

D'un point de vue du poids moléculaire, il s'agit ici d'un groupe intermédiaire pouvant posséder des molécules peu encombrantes telle que le phénol, soluble dans la phase liquide, et des molécules de poids moléculaire plus élevé qui s'adsorberont préférentiellement aux molécules organiques contenues dans les déchets (composé peu mobile restant adsorbé aux particules solides).

Boyd et al. (1983, 1984) ont montré que les micro-organismes contenus dans les boues de STEP sont capables de métaboliser complètement l'acide benzoïque et les composés phénoliques en CH_4 et CO_2. De même, ils ont montré que la digestion anaérobie de boues de STEP permet l'enlèvement préférentiel des atomes de chlore en positions ortho et méta de molécules de chlorophénols ainsi que la dégradation complète de ces composés en CH_4 et CO_2. Ainsi, hormis la formation de méthane et dioxyde de carbone, les principaux sous-produits résultant de la dégradation de molécules de chlorophénols sont le 4-chlorophénol et le phénol.

Brunner, Schoberth et Sahm (1986) ont travaillé de manière approfondie sur le 3-CBA (acide 3 chlorobenzoïque). Ils étudient les étapes de dégradation biologique du 3-CBA à partir d'une culture enrichie en bactéries méthanogènes. Le 3-CBA est une molécule présente dans les boues de STEP, les effluents de l'industrie papetière et dans les lixiviats de décharge.

Selon ces mêmes auteurs, le mécanisme de dégradation du 3-CBA se fait en trois étapes :



❶ Déhalogénation réductrice : l'organisme mis en jeu est encore inconnu. Les conditions optimales de dégradation sont obtenues pour un pH égal à 7 et une température de 34°C (conditions prévalent en digesteur mésophile). Cette étape est l'étape limitante de la dégradation.

❷ Rupture du noyau aromatique : l'organisme mis en jeu est une bactérie anaérobie stricte dont l'optimum d'activité est obtenue pour un pH égal à 7 et une température de 37°C (conditions prévalent en digesteur mésophile).

❸ Méthanogénèse : la production de biogaz met en jeu deux populations fermentaires. Les bactéries acétophiles d'une part transforment l'acétate en CO_2 et CH_4 (type *Methanothrix soengenii*). Les bactéries hydrogénophiles d'autre part transforment le CO_2 en CH_4 en présence de H_2.

Ainsi, les atomes d'halogènes en "méta" sont plus accessibles à la biodégradation que les isomères en "ortho" ou "para". Cela entraîne une différence de rapidité de biodégradation selon la conformation des molécules considérées (isomérie).

L'enlèvement de l'atome de chlore est spécifique, les expériences réalisées par Suflita et al. (1982) montrent que pour des molécules de type acides benzoiques halogénés, seul l'atome de chlore présent en position méta est concernée par la réaction de déhalogénation. Cependant, cette spécificité n'est pas valable dans le cas des atomes de Brome et d'Iode pour lesquels l'enlèvement se fait indépendamment en position orto, méta ou para du cycle bénzénique.

Les auteurs soulignent l'importance du temps d'acclimatation de la flore bactérienne au substrat à dégrader. Ainsi, le temps nécessaire à la biodégradation d'un composé peut être réduit de beaucoup selon le composé mis en jeu. Dans le cas du 4-chlorophénol, le temps de dégradation passe de 16 semaines à 8 semaines. Cette différence est encore plus nette dans le cas du 3,4 et du 3,5 dichlorophénol dont le temps de dégradation passe de 6 semaines à 14 jours dans le cas où les bactéries sont acclimatées au substrat.

Les réactions de déhalogénation sont réalisées par des bactéries anaérobies et non par des phénomènes photochimiques abiotiques ou par des réducteurs chimiques.

Les mécanismes de déhalogénation et de rupture du noyau aromatique sont encore inconnus. A priori, la rupture du noyau aromatique se fait par réduction et la chaîne métabolique de β-oxydation conduit à la formation d'acides gras (dégradables en digesteur).

En effet, Genthner et al. (1989) ont mis en évidence que la transformation de l'acide benzoique en acétate, H_2 et CO_2 nécessite la transformation préalable de l'acide benzoique en benzyl-coenzyme A (substrat de la chaîne métabolique de β-oxydation). Ils ont également montré que ce type de mécanisme est aussi valable pour le 2-chlorophénol.

Kirk et Lester (1989) ont travaillé sur 4 types de molécules monoaromatiques (phénol, 2-chlorophénol, 4-chloro-3-méthylphénol, chlorophénoxyherbicides) issues de boues de STEP.

Le 2-chlorophénol et le 4-chloro-3-méthylphénol sont dégradés de manière importante par voie biologique anaérobie : dégradation de plus de 90% de ces composés en 32 jours.

En tant qu'intermédiaire de dégradation, le phénol est la résultante de la dégradation de la majeure partie des molécules chlorées dérivées du phénol (ex. : 2-chlorophénol). En conséquence, la concentration en phénol augmente de manière nette dans un premier temps pour diminuer ensuite lentement au cours du temps.

Le 4-CPA (4-chlorophénoxy acide acétique) et le 2,4,5-TP (2,4,5-trichlorophénoxy acide propionique) sont dégradés avec des rendements différents (100% en 6 jours pour le 4-CPA et 90% en 32 jours pour le 2,4,5-TP) par voie chimique. Les conditions d'anaérobiose suffisent à la dégradation de ces composés.

Le 2,4-DB (2,4-dichlorophénoxy acide butyrique) n'a pas été significativement dégradé dans chacun des cas (dégradation chimique et/ou biologique). Toutefois, les résultats obtenus posent problème étant donné la grande variabilité des pourcentages de dégradation.

Les auteurs ne donnent cependant pas d'explication quant aux réactions biologiques de dégradation des composés.

Dans le cas des industries chimiques et pétrochimiques, Macarie (1992) énumère les molécules aromatiques homocycliques dégradables par fermentation méthanique. Il s'agit essentiellement de molécules dérivées du benzène (toluène, benzoate, phtalates, nitrobenzène, phénols, …). La liste complète de ces molécules est reportée dans le tableau récapitulatif (voir annexe 5).

2.5.3.3. Cas des composés aromatiques polycycliques

De par leur poids moléculaire élevé, ces molécules ont tendance à s'adsorber à la surface des composés organiques. Ils sont présents en majeure partie dans la phase solide des déchets (composés peu mobiles).

Parmi les composés polyaromatiques, on distingue :

- les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) caractérisés par un regroupement d'anneaux benzéniques (naphtalène, Benzo-a-pyrène).

La substitution d'un ou plusieurs atomes d'hydrogène par un ou plusieurs atomes de chlore conduit à la formation :

- des organochlorés polycycliques tels que les BPC (Biphényls PolyChlorés) dont la combustion conduit à la formation des Dioxines et des Furanes ;
- des pesticides tels que le DDT (DichloroDiphénylTrichloroéthane).

Les organochlorés et les pesticides ont la propriété d'être peu solubles, très toxiques et persistants dans l'environnement.

Cas des HAP

Des études menées par Kirk et Lester, (1990) sur les molécules de type HAP ont mis en évidence que toutes les molécules ne sont pas dégradables par fermentation méthanique de manière significative. Seules 3 des 14 molécules étudiées ont été significativement dégradées lors de l'expérience en batch (voir détails des résultats dans le tableau donné en annexe). La dégradation alors mise en jeu est uniquement chimique.

La non-dégradabilité des autres composés n'est pas imputable à un problème d'acclimatation des populations bactériennes puisque les molécules étaient déjà présentes en quantités non négligeables dans les boues avant le test.

Toutefois, Mc Nally et al. (1998) ont travaillé avec des souches pures de micro-organismes pour évaluer et comparer leur capacité de biodégradation de trois molécules HAP (anthracène, phénanthrène, pyrène) en milieux aérobie et anaérobie. Les molécules utilisées sont issues de laboratoire et les micro-organismes (KBM-1, W-2 et SAG-R) sont cultivés sur une solution nutritive. Les résultats obtenus en milieu anaérobie à 20°C montrent de manière générale une dégradation plus lente de ces composés qu'en milieu aérobie.

Malgré tout, ces molécules apparaissent biodégradables en condition anaérobie par au moins une des souches utilisées dans des temps raisonnables allant de 20 à 72 heures (voir le tableau présenté en annexe 5). Les cellules témoins (métabolisme inhibé au sodium azide) n'ont pas montré de dégradation de leur composé. Le mécanisme de dégradation des composés est donc la résultante de réactions biologiques.

Ainsi, la biodégradabilité de l'anthracène et du pyrène a pu être observée par Mc Nally et al. (1998) avec des souches pures en culture de laboratoire alors que Kirk et Lester en 1990 obtenaient des résultats négatifs en batch de laboratoire à partir de boues de station d'épuration contaminées aux HAPs. L'absence de travaux à l'échelle pilote ou industrielle venant étayer ces résultats ne nous permet pas de conclure de manière univoque quant au devenir des ces composés en digestion anaérobie.

Cas des organochlorés

Insecticides :

Certains auteurs ont montré que la déchloration réductrice peut être réalisée en milieu anaérobie par des micro-organismes capables de transformer des produits chimiques insecticides organochlorés tels que le DDT, le Lindane, l'Heptachlore, le Mirex, L'Endrin et le Dieldrine (Guenzi, W.D., Beard, W.E., 1967 ; Esaac, E.G., Matsumura, F., 1980 ; Lal, R., Saxena, M.D., 1982).

Pour exemples, le DDT est ainsi converti en DDD et le Lindane en tétrachlorocyclohexane suite à l'enlèvement d'atomes d'halogènes.

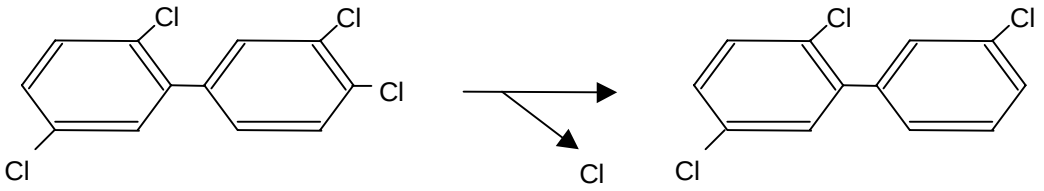
PCB :

La déchloration réductrice des PCB est le résultat de l'activité bactérienne. Elle a été mise en évidence à partir de souches présentes dans les sédiments avec production concomitante de méthane (Nies et al., 1990 ; Morris et al., 1992 ; Ye et al., 1992).

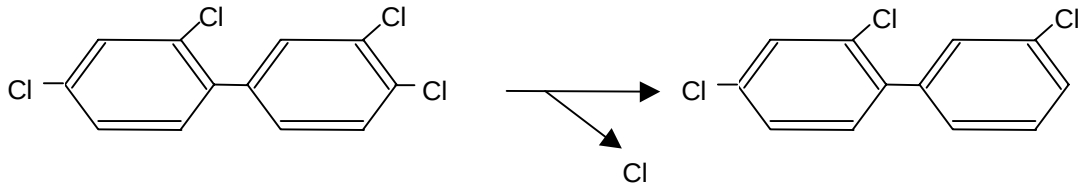
Les bactéries méthanogènes en particulier sont riches en cofacteurs métalliques réducteurs (F430) et doivent ainsi catalyser la déchlorination réductive en milieu anaérobie (Tandoi, V.et al., 1994).

Ye et al. (1995) se sont intéressés plus particulièrement au rôle joué par les bactéries méthanogènes dans la déchloration réductrice des PBCs. Ils ont ainsi mis en évidence la capacité des méthanogènes à assurer l'enlèvement du chlore situé en *para* de la molécule de PCB.

De cette manière, les auteurs proposent des schémas réactionnels de passage des PCBs 36 et 37 aux PCBs 15 et 16 :



2,5-3,4-CB (PCB 36) 2,5-3-CB (PCB 15)



2,4-3,4-CB (PCB 37) 2,4-3-CB (PCB 16)

Le suivi des concentrations de ces différentes molécules de PCB montre effectivement une diminution des concentrations en PCB 36 et 37 (de respectivement 78 et 65%) et une augmentation des concentrations en PCB 15 et 16 (respectivement de 156 et 234%).

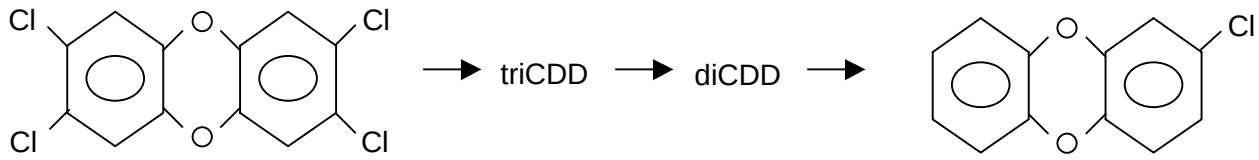
La digestion en milieu anaérobie permet ainsi l'obtention de molécules de PCBs ayant un nombre moins important d'atomes de chlore. Toutefois, la toxicité de ces molécules semble être problématique. [1]

Dioxines :

Les travaux menés par Barkovskii, A.L. et Adriaens, P. (1996) traitent de la déchlorination de la 2,3,7,8 TCDD (TétraChloroDibenzo-p-Dioxine). Ils ont travaillé sur des sédiments contaminés à la TCDD (Passaic River, N.J.) et observé leur évolution en milieu anaérobie en présence de substrat (acétate, butyrate et benzoate) et de bactéries méthanogènes issues des mêmes sédiments. Les résultats montrent que la déchloration réductrice de la TCDD conduit à la formation de tri-CDD, di-CDD et 2-mono-CDD.

[1] Les études récentes menées par le Professeur L.W. Robertson et son équipe à l'Université du Kentucky (Etats-Unis) montrent que ces molécules faiblement halogénées interagissent dans le métabolisme humain de manière plus significative que les molécules de départ. Moins riches en atomes de chlores, ces molécules peuvent être oxydées et former des dérivés quinoniques pouvant notamment s'apparenter à la tyroxine et ainsi dérégler le fonctionnement tyroidien (mécanisme anti-tyroidien). D'un point de vue de la génotoxicité, les mécanismes d'oxydation mis en jeu peuvent entraîner une oxydation du matériel génétique (ADN, effet mutagène).

Les auteurs proposent les étapes suivantes de déchloration microbienne (réaction stoechiométrique) :



2,3,7,8-tétraCDD 2-monoCDD

Les auteurs notent que cette réaction de déchlorination s'applique également aux composés de type octa-CDD, hepta-CDD, hexa-CDD et penta-CDD mais également aux molécules tétra-CDD autres que la 2,3,7,8 TCDD. Ces molécules ont toutefois une importance environnementale moindre que la 2,3,7,8-TCDD, qui a été étudiée plus en détails ici par les auteurs.

La déchloration de la 2,3,7,8-TCDD, molécule à haut risque écotoxicologique, conduit à la formation de la 2-monoCDD dont le comportement éco-toxicologique reste à démontrer.[2]

Autres :

Kirk et Lester (1989) ont travaillé sur le devenir en méthanisation du MCPB (4 (4-chloro-2-méthylphénoxy) acide butyrique). Les résultats obtenus montrent que cette molécule est dégradée par voie chimique. Les conditions d'anaérobiose suffisent à dégrader 90% du MCPB en 32 jours.

Dans le cas du traitement des composés de l'industrie chimique et pétrochimique, Macarie (1992) donne la liste des molécules dégradables en fermentation méthanique (voir tableau récapitulatif donné en annexe 5). Plusieurs des molécules citées sont des acides aminés constitutifs des protéines (pyridine et ses dérivés, tryptophane), d'autres sont des acides nucléiques constitutifs de l'ADN et de l'ARN (purine, adénine) qui ne présentent pas de risques environnementaux majeurs.

[2] La 2,3,7,8-TCDD est reconnue pour son effet cancérigène par sa capacité à se fixer sur les récepteurs cellulaires et à favoriser le développement anarchique des cellules. Toutefois, des travaux en cours (Robertson, L.W., Université du Kentucky, E.U.) tendent à montrer que les molécules issues de la déchloration des TCDD ont des effets toxiques autres que la molécule mère et en particulier des effets mutagènes.

Une expertise collective réalisée par l'INSERM (prévue pour Mai 2000) devrait apporter des éléments de réponse quant à l'écotoxicologie des molécules à faible degré d'halogénation dérivées des PCBs et des Dioxines.

2.5.4. Efficacité de dégradation en milieu aérobie

La dégradation des composés aliphatiques halogénés ne se déroule pas en conditions aérobies (Bouwer, E.J., Rittmann, B.E., Mc Carty, P.L., 1981).

D'après les études menées par Sahm, Brunner et Schoberth (1986), le traitement anaérobie est plus approprié à la biodégradation des composés aromatiques halogénés qu'un traitement biologique aérobie pour plusieurs raisons :

- En milieu aérobie, les composés aromatiques halogénés ont tendance à polymériser lorsqu'ils sont dégradées par des bactéries aérobies (Knackmuss, 1982). Les polymères ainsi formés sont résistants à toute autre attaque bactérienne.
- Théoriquement, les composés aromatiques polyhalogénés devraient être plus difficilement biodégradables en conditions aérobies, car étant moins denses en électrons, l'attaque électrophile de l'oxygène est rendue plus difficile. A l'inverse, moins d'électrons favorisent les mécanismes réducteurs.
- Etant donné la forte affinité caractérisant les mécanismes de biodégradation en milieu anaérobie pour les composés aromatiques halogénés, le traitement anaérobie convient mieux dans l'enlèvement de molécules présentes à l'état de trace dans les effluents industriels.

La dégradation de composés aromatiques halogénés en milieu aérobie est souvent limitée car l'hydroxylation nécessite la libération de deux cycles adjacents et le chlore n'est libéré que si le cycle est ouvert (Tiedje et al., 1987).

Toutefois, les études menées par Mc Nally et al. (1998) sur la dégradation de molécules de PAH en présence de souches pures ont montré la plus grande rapidité des processus aérobies de biodégradation des composés aromatiques polycycliques.

2.5.5. Récapitulatif des données

Voir tableau récapitulatif présenté en annexe 5.

2.5.6. Synthèse sur le devenir des micropolluants organiques

Tableau de synthèse de la dégradation des micropolluants organiques en digesteur (tableau non exhaustif rédigé au regard des résultats obtenus dans la littérature étudiée) :

Composé	Entièrement dégradable (1)	Potentiellement dégradable (2)	Faiblement ou partiellement dégradable (3)	Dégradation inexistante (4)
Composés aliphatiques non halogénés (essentiellement COV)	++++			
Composés aliphatiques halogénés	++++			
Hydrocarbures Aromatiques Monocycliques (HAM)	+++	+		
Composés Aromatiques Monocycliques halogénés	+++	+		
Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP)	+	+		++
Insecticides organochlorés			++++	
PCBs			++++	
Dioxines			++++	

La répartition des croix dans les colonnes reflète les différences de comportement des composés au sein des différents groupes.

(1) : dégradation à 100% des composés.

(2) : dégradation à plus de 85% et à moins de 100% des composés.

(3) : formation de sous-produits tels que les molécules formées par déhalogénation réductrice des molécules mères.

(4) : les molécules se retrouvent sous la même forme en sortie de digesteur.

Hormis les résultats donnés par Macarie (1992), l'appréciation de la biodégradabilité des composés est le résultat d'expérimentations réalisées en laboratoire (batch).

Les auteurs insistent sur le temps nécessaire d'adaptation des bactéries au substrat à dégrader. Ainsi, selon que la flore bactérienne ait déjà été en contact avec le composé, l'efficacité de la dégradation sera variable.

De manière générale, on peut conclure en :

- une dégradabilité des micropolluants organiques aliphatiques et mono-aromatiques par la mise en jeu de procédés biologiques ou chimiques ;
- une dégradabilité de certains micropolluants organiques poly-aromatiques par la mise en jeu de procédé biologique (déhalogénation réductrice des composés chlorés) ou chimique ;
- la non-dégradabilité de plusieurs micropolluants organiques poly-aromatiques.

Dans le cas des composés organohalogénés (PCBs et Dioxines), au vu des résultats obtenus dans la littérature, la digestion anaérobie conduit à la formation de molécules moins riches en atomes d'halogène (dégradabilité partielle, mécanisme de déhalogénation réductrice). Toutefois, et dans l'état actuel des connaissances, ces molécules semblent présenter un risque toxicologique important (effets mutagènes, anti-tyroïdiens, …), différents des risques connus pour les molécules mères (effet cancérigène, …). Les travaux en cours ainsi que les publications prochaines de l'INSERM permettront d'apporter des éléments d'explication sur le sujet.

D'après ces résultats et en tenant compte de l'affinité des micropolluants organiques pour les phases solides et liquides des déchets, l'effluent de la digestion devrait comprendre :

- Dans sa phase liquide (surnageant), une concentration très faible à nulle de micropolluants organiques, étant donné la bonne dégradabilité des composés présents dans cette phase (composés solubles). Toutefois, il faut tenir compte de la possibilité d'adsorption de composés polyaromatiques à de la matière dissoute inclue dans cette phase.
- Dans sa phase solide (boue), la présence de plusieurs micropolluants organiques polyaromatiques (adsorbés à la surface des molécules organiques) à une concentration voisine de la concentration initiale mesurée dans les déchets ou sous une autre forme que celle admise en entrée de digesteur.

2.6. SYNTHESE

2.6.1. Devenir des agents de danger

2.6.1.1. Germes pathogènes

Les différents documents bibliographiques étudiés nous ont permis de dégager les éléments suivants :

- La valeur du taux de réduction des germes pathogènes est liée au couple temps – température.
- Du point de vue du temps de passage en digesteur, le temps de séjour minimal garanti apparaît comme un paramètre important.
- Du point de vue de la température :
  - Il existe des différences importantes d'efficacité de dégradation selon le niveau de température maintenu dans le réacteur (domaines mésophile et thermophile, mais aussi domaine psychrophile et autres températures intermédiaires).
  - Il ressort un effet hygiénisant de la digestion thermophile (> 55°C, > 15 jours) sauf sur souches résistantes, notamment bactéries sporulées.
  - De même, mais dans une moindre mesure, il ressort un abattement de la plupart des germes pathogènes dans les conditions classiques de fonctionnement en plage mésophile (> 35°C, > 21 jours).
- D'autres facteurs entrent en ligne de compte dans l'efficacité de dégradation en digesteur tels que la concentration en ammoniac (NH_3) qui semble avoir un effet particulier sur la réduction des concentrations en virus et parasites.
- Des indicateurs de performances peuvent être définis en fonction de la plage de température (streptocoques et entérocoques).
- Des effets inhibiteurs liés à la présence d'antibiotiques apparaissent rarement dans des conditions normales d'utilisation.

2.6.1.2. Micro-polluants métalliques

Concernant les micropolluants métalliques, il ressort :

- Des effets positifs sur le procédé de digestion du fait que certains métaux peuvent être des cofacteurs enzymatiques, des inhibiteurs de la toxicité des sulfates et jouer un rôle sur l'agrégation de la biomasse…
- Les métaux ont un effet bactériostatique et non bactéricide.
- L'effet bactériostatique des métaux est lié à la concentration du métal sous forme libre (forme biodisponible) et non avec la concentration totale du métal dans le milieu.
- Il existe des mécanismes d'adaptation des populations fermentaires à des concentrations élevées dans des conditions favorables : temps de rétention élevé, présence de composés solides en suspension.

- En sortie de digesteur, les métaux sont accumulés dans la phase solide de l'effluent.

2.6.1.3. Micro-polluants organiques

Concernant le devenir en méthanisation des micro-polluants organiques, l'ensemble des documents étudiés nous montre :

- La dégradabilité des composés organiques aliphatiques et des composés organiques mono-aromatiques par voies biologiques et chimiques.
- La dégradabilité potentielle de certains composés organiques poly-aromatiques par voie biologique (déhalogénation réductrice) ou par voie chimique.
- La faible dégradabilité de certains composés halogénés comme les PCBs et Dioxines et la formation par voie biologique de composés en partie déhalogénés de toxicité différente des produits initiaux. Formation de sous-produits instables aux effets probablement mutagènes et anti-thyroïdiens différents des effets mutagènes des molécules mères (molécules stables).
- En sortie de digesteur, il apparaît :

- Une concentration très faible des micro-polluants organiques dans la phase liquide malgré la présence possible de composés polyaromatiques adsorbés à de la matière dissoute.
- Des composés organiques poly-aromatiques adsorbés à la surface des molécules organiques dans la phase solide, à une concentration voisine de la concentration initiale en entrée de digesteur ou sous forme de sous-produits de dégradation.

2.6.2. Les facteurs mis en jeu

2.6.2.1. Temps de séjour et temps minimal

Le temps de séjour est un paramètre fondamental, qui intervient aussi bien comme facteur déterminant :

- Des **mécanismes de réduction** des germes pathogènes et des composés organiques. Les temps de séjour rencontrés habituellement (2 à 4 semaines) sont compatibles avec les exigences de réduction pour la plupart des composés dégadables par voie anaérobie, sauf exceptions. Ils doivent être suffisamment importants pour les germes pathogènes – pour lesquels c'est plutôt le temps minimal de séjour qui est déteminant.
- Des **mécanismes de résistance du milieu aux effets inhibiteurs ou toxiques**. Le milieu fermentaire est capable de mettre en œuvre différents mécanismes pour peu qu'il ait une durée d'adaptation suffisante.

2.6.2.2. Température

La température intervient principalement sur la réduction des germes pathogènes.

Toutefois, cette température intervient également sur la sensibilité des populations fermentaires. Ainsi, une population évoluant en milieu thermophile sera plus sensible à l'apport d'inhibiteurs potentiels de la méthanisation (métaux, antibiotiques, …).

L'intérêt de la digestion anaérobie apparaît clairement : la production de biogaz permet de fournir l'énergie nécessaire de façon économique et sûre (non dépendante des conditions météorologiques et de production homogène) au procédé de fermentation et à la pasteurisation.

2.6.2.3. Autres facteurs

Les mécanismes en jeu sont pour l'essentiel d'ordre biologique, mais d'autres facteurs interviennent, soit directement, soit parce qu'ils favorisent ces mécanismes biologiques :

- Les conditions d'anaérobiose favorisent les réactions de réduction (réactions biologiques de déhalogénation réductrice, réaction chimique de précipitation des sulfures de métaux, …) et l'élimination de populations dont l'existence est conditionnée par la présence d'oxygène (germes aérobies stricts).
- La présence de matières solides en suspension est un facteur favorable au déroulement des réactions chimiques et biologiques.
- L'ammoniaque (NH3) est susceptible d'agir sur la réduction des virus et parasites, mais les mécanismes ne sont pas établis.

Tableau de synthèse :

	T° de fermentation	Temps de séjour	Conditions physico-chimiques du milieu	Métabolisme anaérobie
Virus	+++	++	+	-/+
Bactéries	+++	+++	-/+	-/+
Parasites	+++	+++	-/+	-/+
Micro-polluants métalliques	-	+ (1)	+++	+
Micro-polluants organiques	-	++ (2)	-/+	+++

+++ : facteur déterminant ; ++ : facteur très important ; + : facteur important ; -/+ : facteur peu important ; - : facteur non primordial

(1) : relatif au temps d'adaptation des populations fermentaires vis à vis d'une potentielle toxicité des métaux.

(2) : relatif au temps d'adaptation des populations fermentaires vis à vis d'une potentielle dégradation du composé mis en jeu.

3. Mise en œuvre des procédés et devenir des éléments de danger

3.1. INTERNALISATION DES ASPECTS SANITAIRES DANS LES INSTALLATIONS DE METHANISATION

L'objectif de cette partie est de visualiser la perception des éléments de danger par les exploitants et les constructeurs d'unités de digestion anaérobie.

Pour cela, deux types de questionnaires ont été élaborés (voir annexe 6) :

- un à l'attention des constructeurs de digesteurs anaérobies ;
- un autre à l'attention des exploitants utilisant la digestion anaérobie comme moyen de traitement des déchets et sous-produits organiques.

Les éléments mentionnés ci-après sont le reflet des réponses données par un ensemble de constructeurs (3) et d'exploitants (6) opérant sur des déchets de type fermentescible d'ordure ménagère (FOM), boues de station d'épuration (STEP) et déchets agro-industriels (vinasses). Ce bilan n'est donc pas exhaustif mais il constitue une approche des recommandations et des mesures prises à l'heure actuelle en France et en Europe.

La liste des industriels interrogés est donnée en annexe 7.

Nous distinguerons la présence des gaz de fermentation et la présence de germes pathogènes et de micro-polluants organiques et métalliques.

3.1.1. Prise en compte de la présence de gaz de fermentation

Au vu des réponses données par les industriels, les risques encourus relatifs aux gaz de fermentation sont essentiellement des risques d'incendie et d'explosion liés à la présence de méthane (gaz explosif et inflammable). Ces risques apparaissent plus particulièrement autour du digesteur et aux niveaux des zones d'accumulation possibles du gaz comprenant des appareils électriques ou motorisés (compresseur gaz, chaudière, groupe électrogène, …).

Au regard des risques encourus, **les mesures de prévention** existantes sur le terrain sont :

- une ventilation des locaux et des zones à risques (ventilation automatique ou naturelle) ;
- la mise en place de dispositifs de signalisation du bon fonctionnement de la ventilation (dispositifs lumineux ou sonores) ;
- suivant la taille de l'installation, la surveillance de la qualité de l'atmosphère se fait par la mesure des concentrations en méthane (CH_4) (explosimètre) et sulfure d'hydrogène (H_2S) dans l'air à l'aide d'appareils en poste fixe ou portables ;
- des panneaux de signalisation des risques d'incendie (panneaux d'interdiction de fumer) ;
- de rares industriels procèdent à une étude de danger relative à la présence des gaz de fermentation.

Les mesures prises **au niveau des travailleurs** différent peu d'un industriel à l'autre :

- De manière générale, le personnel connaît les consignes de sécurité générales relatives aux risques d'incendie. Certains industriels (industriel de taille importante ou industriels étrangers) fournissent également des consignes spécifiques aux risques sanitaires.
- Lors d'une intervention en zone sensible, le personnel doit être équipé d'un détecteur portable (CH_4 et H_2S) et/ou être accompagné.
- Lors d'une intervention plus exceptionnelle sur le digesteur, le personnel est amené à porter un système de respiration autonome (appareil respiratoire) ou un masque.
- Le personnel est sensibilisé aux risques encourus (risques d'explosion, risques d'incendie) à l'aide d'une formation ou d'un stage réalisé sur site et dont la fréquence varie de 1 fois par mois à 1 fois par an selon l'industriel interrogé.

3.1.2. Prise en compte de la présence de germes pathogènes et de micropolluants organiques et métalliques dans les déchets

Les **lieux ou zones à risques** tels que définis par les industriels sont les suivants :

- zone de stockage des déchets en amont du digesteur ;
- zone de remplissage du digesteur ;
- zone de vidange du digesteur ;
- atelier de déshydratation des boues ;
- aire de stockage des boues en fin de traitement.

Les mesures prises en conséquence au niveau de ces zones à risques sont :

- une ventilation des locaux accompagnée d'un système de surveillance du bon fonctionnement de la ventilation (système lumineux ou sonore) ;
- les appareils de surveillance de la qualité de l'atmosphère ne prennent jamais en compte la mesure de poussières ou d'aérosols autour du système de traitement anaérobie ;
- dans de nombreux cas, il existe des points d'eau permettant le lavage des mains et, dans une moindre mesure, le lavage des chaussures ou des bottes en sortie de zones à risques ;
- il n'existe que très rarement des panneaux de signalisation spécifiques aux risques sanitaires (rappel ou signalisation de la présence de germes pathogènes et de micro-polluants organiques et métalliques dans les déchets) ;
- les industriels ne réalisent pas d'étude de danger relative à la présence de germes pathogènes et de micropolluants organiques et métalliques dans les déchets;
- hormis dans les installations de petite taille, l'air vicié est traité.

Les mesures mentionnées par les Industriels et relatives à **la protection des travailleurs** sont :

- les travailleurs reçoivent des consignes de sécurité générales. Seules les grandes entreprises françaises ou les industriels étrangers (pays nordiques) fournissent des consignes spécifiques aux risques sanitaires liés au traitement des déchets ;
- de manière générale, l'équipement du personnel travaillant en zone sensible est le suivant :
  - vêtements adaptés (courant)
  - bottes ou chaussures de sécurité (courant)
  - gants (courant)
  - visière (occasionnel)
  - lunettes de protection (occasionnel)
- l'utilisation d'un masque est recommandée aux abords des zones de production d'aérosols (zones de mise en mouvement des déchets en milieu ouvert) et lors d'interventions sur le digesteur.

L'état de santé des travailleurs ne fait généralement pas l'objet d'un suivi particulier sortant du cadre de la médecine du travail (visite annuelle, vaccinations usuelles). Toutefois, certaines entreprises travaillant plus particulièrement dans le domaine du traitement des eaux usées procèdent à la vaccination et au suivi des travailleurs quant aux risques liés à la présence de germes pathogènes potentiellement présents dans ce type de déchet (hépatite, leptospirose).

Au niveau des procédés de traitement, les industriels optent pour différentes mesures :

- Lorsqu'il existe un transport des déchets par la route, le lavage des camions servant au transport des déchets peut (de manière égale) :
  - ne pas exister ;
  - se faire sur la station de traitement ou être exigé du transporteur.

- Concernant le stockage des déchets, il n'existe pas de recommandations particulières visant à limiter la dispersion aérienne des déchets ou la possibilité de mise en contact des déchets avec les travailleurs. Selon le cas considéré, les déchets peuvent être stockés en milieu clos (cuve étanche,…) ou en milieu ouvert (fosse, lagune, …) en entrée comme en sortie de digesteur.

- Concernant les paramètres de la digestion anaérobie :
  - il apparaît clairement que les industriels pratiquant une digestion thermophile (47 à 55°C) pensent éliminer les germes pathogènes présents dans les déchets. Pour exemple, une digestion à 47°C pendant 21 jours permettrait ainsi l'élimination des Salmonelles, œufs d'helminthes, Entérovirus et Coliformes thermotolérants.
  - à l'inverse, la digestion mésophile (35 à 40°C) ne ressort pas comme un moyen efficace d'élimination des micro-organismes pathogènes potentiellement présents dans les déchets.

- La pasteurisation est très peu développée. Parmi les industriels interrogés, celle-ci est limitée à nos voisins Européens du Nord. Elle est pratiquée sur des déchets appartenant à une catégorie dite à risques d'un point de vue sanitaire (ex : restes de cuisine en Allemagne) ou recommandée dans le traitement de déchets dont les boues sont destinées à l'épandage sur des terres agricoles. Lorsqu'elle existe, cette pasteurisation s'opère à une température de 70°C pendant 1 heure avant le passage du déchet en digesteur anaérobie.

- Hormis les paramètres biochimiques classiquement regardés en méthanisation (MS, MSV, pH, composition en N, P, K), les déchets et sous-produits organiques sont analysés à différents niveaux en sortie de digesteur. Au vu des réponses obtenues, on peut définir par ordre de fréquence d'analyse les éléments faisant l'objet d'une analyse sur le déchet en sortie de digesteur :
  - les micro-polluants métalliques apparaissent comme les éléments les plus souvent analysés en sortie de digesteur (essentiellement : Zn, Ni, Cr, Cd, Pb, Hg et Cu) ;
  - les germes pathogènes (Salmonelles, œufs d'helminthes, Entérovirus et Coliformes) ;
  - les micro-polluants organiques (HAP et PCB) ;
  - les micro-organismes phytopathogènes au travers d'un test de germination sur quelques espèces végétales.

3.1.3. Synthèse de la prise en compte des éléments de danger (Gaz, agents pathogènes et micropolluants) par les Industriels de la méthanisation

Les risques liés aux gaz de fermentation sont de deux ordres :

- En fonctionnement normal, la digestion et la gestion des gaz se faisant en milieu clos, le risque peut être lié à l'existence de fuites. Il s'agit alors essentiellement de risques d'explosion et d'incendie dans des zones ou des locaux susceptibles d'accumuler du gaz (zones à risques).
- Lors d'une intervention sur digesteur, le risque encouru devient également celui de la toxicité des gaz (H_2S).

Ainsi, dans des conditions normales de fonctionnement, les industriels ne font pas mention de risques particuliers liés à la présence de gaz de fermentation pour le personnel travaillant aux abords d'un digesteur anaérobie.

Au vu des éléments mentionnés par les industriels, les risques sanitaires relatifs à la présence de germes pathogènes et de micro-polluants organiques et métalliques dans les déchets sont davantage à considérer avant et après le passage en digesteur (phases de remplissage et de vidange d'un digesteur respectivement en amont et en aval du traitement anaérobie) qu'au niveau du digesteur lui-même. Cette considération est valable à deux niveaux :

- au niveau du contact du personnel avec les déchets dont le risque associé est réduit par l'utilisation de vêtements adaptés (gants, bottes de sécurité, lunettes de protection, …) et par la mise en place de points de lavage des mains et des chaussures (points d'eau) ;
- au niveau aérien, le milieu clos constitué par le digesteur est peu propice à l'aérodispersion de contaminants biologiques ou chimiques pouvant contribuer à un risque sanitaire pour les travailleurs.

Les analyses pratiquées sur les déchets en sortie de digesteur (micro-polluants métalliques ; organiques et micro-organismes pathogènes) correspondent aux analyses demandées d'un point de vu réglementaire dans le cas de l'épandage d'une "boue hygiénisée" (au sens de l'arrêté du 8 Janvier 1998 – Article 16).

Toutefois, dans l'ordre de priorité des analyses, les micropolluants métalliques occupent une place particulière aux yeux de l'exploitant.

Hormis dans le domaine du traitement des eaux usées, il apparaît que les travailleurs ne font pas l'objet d'un suivi particulier de leur état de santé.

Il apparaît également que les mesures prises au niveau des systèmes de traitement des déchets en digestion anaérobie sont variables d'une entreprise à une autre selon le type de déchet traité et les moyens pouvant être mis en œuvre.

3.2. ELEMENTS DE COMPARAISON ANAEROBIE / AEROBIE SUR LE DEVENIR DES ELEMENTS DE DANGER

3.2.1. La réduction des germes pathogènes

3.2.1.1. Notions élémentaires sur le traitement de la matière organique et les effets hygiénisant par voie aérobie

La stabilisation par voie biologique aérobie consiste en une consommation par les micro-organismes (bactéries et champignons) de l'oxygène (O_2 servant d'accepteur final d'électrons des chaînes métaboliques). La dégradation de la matière organique entraîne une production de chaleur qui peut jouer un rôle hygiénisant selon la combinaison du couple température /temps d'exposition. Les modalités de la réduction des germes pathogènes sont donc comparables entre voie anaérobie et voie aérobie. La différence essentielle réside en une maîtrise de la température par la réaction elle-même dans le cas de l'aérobiose alors qu'en méthanisation la température est maintenue constante par un chauffage extérieur (alimenté par le biogaz produit par les réactions de dégradation de la matière organique).

Une bonne maîtrise de la stabilisation aérobie demande un apport d'oxygène afin de ne pas créer de zones d'anoxie. Cette apport d'air ou d'O_2 peut se faire par injection directe dans le milieu ou par retournement dans le cas de produits solides. On distingue généralement les techniques appliquées aux effluents liquides des techniques destinées aux produits solides.

Pour des effluents liquides, la stabilisation aérobie est classiquement mise en œuvre dans des ouvrages de stockage à l'air libre (cas des boues, des lisiers,…) à température sensiblement identique à la température ambiante et avec des temps de séjour plus ou moins long selon le stockage souhaité. Les stabilisations aérobies mésophiles et /ou thermophiles ne sont pas pratiquées en France (Elissalde, 1994). Les anglo-saxons parlent même de digestion aérobie thermophile qui présente des effets hygiénisant intéressant (> 4log pour 55 - 60°C pendant 10 jours minimum).

La pratique du compostage est dédiée au traitement de produits solides (fumiers, déchets verts, FFOM,…) ou à des produits liquides (lisiers, boues de step,…) en mélange avec un support structurant généralement carboné (paille, copeaux, sciure,…).

On distingue trois modes de compostage :

- compostage en andains avec retournements périodiques pour assurer une aération du tas et un maintien de la température ;
- compostage en andains avec ventilation forcée (refoulement ou aspiration) ;
- compostage en réacteur avec aération forcée.

Pour que l'hygiénisation soit effective, il est primordial que chaque particule élémentaire soit soumise à l'effet thermique hygiénisant pendant une période minimale suffisante. La conduite du compostage est une des conditions fondamentales pour la réussite de l'opération.

Les limites du procédé concernent :

- le nombre et la qualité des retournements pour maintenir un degré d'oxygénation suffisant au maintien de la température et à l'homogénéisation de l'andain ;
- la qualité de la ventilation (ou aspiration) dans un milieu hétérogène joue également un rôle primordial pour que des zones moins chaudes ne puissent pas apparaître ;
- le niveau et la durée de la phase thermophile sont directement liés aux conditions de la fermentation et notamment à la composition biochimique des produits. La maîtrise de la montée en température peut être délicate (fermentation trop rapide) ou insuffisante (faible biodégradabilité).

A ce niveau les systèmes de compostage non couverts présentent des limites d'efficacité en raison de la sensibilité aux conditions climatiques. Les systèmes en réacteur assurent un contrôle plus fin des paramètres de fonctionnement et permettent en général d'atteindre un degré d'hygiénisation intéressant à condition d'atteindre un temps de séjour suffisant (minimum 10 jours, Strauch, 1991). Des systèmes industriels sont développés par diverses compagnies qui se rapprochent d'unité de méthanisation dans le principe et le fonctionnement.

3.2.1.2. Eléments de comparaison des effets hygiénisant selon la voie biologique utilisée

Anaérobie	Aérobie
Facteurs prépondérants : ▪ couple temps /température	*Facteurs prépondérants :* ▪ couple temps /température ▪ niveau d'oxygénation
*Effet hygiénisant satisfaisant * :* ▪ digestion thermophile : 55°C pendant 10 j ▪ digestion mésophile : 35°C pdt 21 j	*Effet hygiénisant satisfaisant * :* ▪ compostage bien conduit : 50 – 60°C pendant 10 j
*Effet moins ou peu efficaces ** :* ▪ digestion psychrophile : 20°C plus de 30 j	*Effet moins ou peu efficaces ** :* ▪ compostage à faible température : 40°C pendant 15 à 20 j ▪ stabilisation froide (aération) : 20°C pdt 30 j
Avantages /inconvénients process ▪ bonne homogénéisation ▪ bonne maîtrise de la température du process ▪ contrôle du temps de séjour	*Avantages /inconvénients process* ▪ contraintes d'homogénéisation au regard du contact thermique des particules élémentaires ▪ nécessité du contrôle de l'oxygénation et du bon déroulement de la biodégradation aérobie ▪ bonne maîtrise du temps de séjour /andains

** On retiendra d'après les données bibliographiques comme effet hygiénisant satisfaisant une diminution d'au moins 4log des populations d'organismes pathogènes et de contamination fécales.*

*** La réduction provoquée est généralement inférieure à 2log*

Si les facteurs déterminants sont comparables entre voie anaérobie et voie aérobie, les différences principales sur l'effet hygiénisant sont liées aux conditions de mise en œuvre des process. Ainsi, le maintien du produit à une température suffisante pendant un temps approprié est plus facilement garanti dans le cas d'un traitement en réacteur fermé qu'au niveau d'un process de compostage (hormis le compostage en réacteur). Le contrôle des paramètres de traitement sont également plus facilement maîtrisable en digestion anaérobie et notamment le maintien de la température (système de chauffage externe).

Il est certain que cette comparaison est à relativiser en tenant compte du degré de complexité et de technicité du process utilisé. Le choix de la voie de traitement doit être fait en prenant en compte le niveau de maîtrise de l'effet hygiénisant et des risques encourus.

3.2.2. La dégradation des micro-polluants organiques

La biodégradation des polluants organiques peut avoir lieu quelque soit la voie fermentaire ou le moment dans la filière de traitement. Cependant, elle est très variable suivant le composé et son niveau de biodégradabilité en aérobie et anaérobie. Le tableau suivant donne quelques exemples de composés et leur niveau de biodégradabilité selon la voie considérée.

	Anaérobie	**Aérobie**
Hydrocarbures aliphatiques et aromatiques	Biodégradation plus ou moins importante et rapide selon les composés. Bonne dégradation des composés aliphatiques chlorés.	Biodégradation assez rapide notamment des hydrocarbures volatils (benzène, phénol, crésols, chlorobenzène, hydrocarbures aliphatiques chlorés, …)
Composés polycycliques aromatiques	Biodégradation de certains composés de type HAP. Faible ou absence de dégradation pour les autres composés.	Faible biodégradation sauf quelques composés (naphtalène, …).
Composés halogénés	Déhalogénation réductrice assurée par les méthanogènes. Cas des pesticides PCB, tétrachloroéthylène, …	Généralement pas dégradés sous conditions aérobies et même anoxique.

La recherche d'une plus grande réduction de la toxicité intrinsèque d'un produit peut être assurée par la combinaison de la voie anaérobie et aérobie. En milieu anaérobie, les réactions de déhalogénation réductrice permettent la formation de sous-produits plus facilement accessibles aux réactions de dégradation aérobie que les molécules initiales, plus stables.

3.2.3. Le devenir des micro-polluants métalliques

D'une manière générale les micro-polluants métalliques présents dans les produits traités se retrouvent en aval plus concentrés dans l'effluent (baisse de la MS) et ce quelque soit la voie de traitement.

La répartition entre phase liquide et phase solide va changer selon la spéciation des métaux d'une part, et de la nature des éléments organiques présents d'autre part. Ainsi la fixation des micro-polluants dans la fraction solide met en jeu divers mécanismes d'importance variable selon la voie privilégiée.

Le tableau suivant présente de manière succincte les principaux phénomènes en jeu :

Anaérobie	Aérobie
Formation de sulfures métalliques très peu solubles en condition de réduction entrainant une très forte immobilisation des micro-polluants métalliques dans la fraction solide. Absorption importante des micro-polluants par les micro-organismes pouvant entraîner des phénomènes de toxicité (cas du zinc et du nickel) Fixation des éléments en solution et précipitation des composés néoformés.	Formation et précipitation de sels métalliques insolubles Absorption du micro-polluant en solution par les microorganismes bactériens Adsorption des particules colloïdales Fixation des micro-polluants en solution sur des composés extracellulaires isolubles (essentiellement des polysaccharides) et précipitation des complexes formés

3.3. MISE EN ŒUVRE DES PROCEDES

3.3.1. Performances théoriques et conditions de mise en œuvre

La digestion anaérobie – comme les autres technologies auxquelles on peut la comparer – présente des performances que l'on peut qualifier « d'intrinsèques » ou théoriques.

Les performances réelles d'une installation dépendent également d'autres facteurs :

- la fiabilité du procédé : possibilités de contrôle (possibilité de mesurer les paramètres opératoires en continu, représentativité de ces mesures), régularité des performances (sensibilité aux conditions météorologiques, aux variations de charge et de composition des substrats…), de garantie…
- les contraintes de mise en œuvre : complexité du procédé, nombre d'étapes en jeu, qui jouent sur le nombre de paramètres opératoires à contrôler et d'équipements à gérer…
- les contraintes d'exploitation : dépendance au facteur humain (écart entre consignes données et comportements réels lié à des phénomènes de routine et d'accoutumance…), possibilité d'automatisation…

Ainsi, deux procédés qui présentent des performances théoriques similaires peuvent s'avérer, à l'échelle de mise en œuvre industrielle, très différents dans leurs résultats.

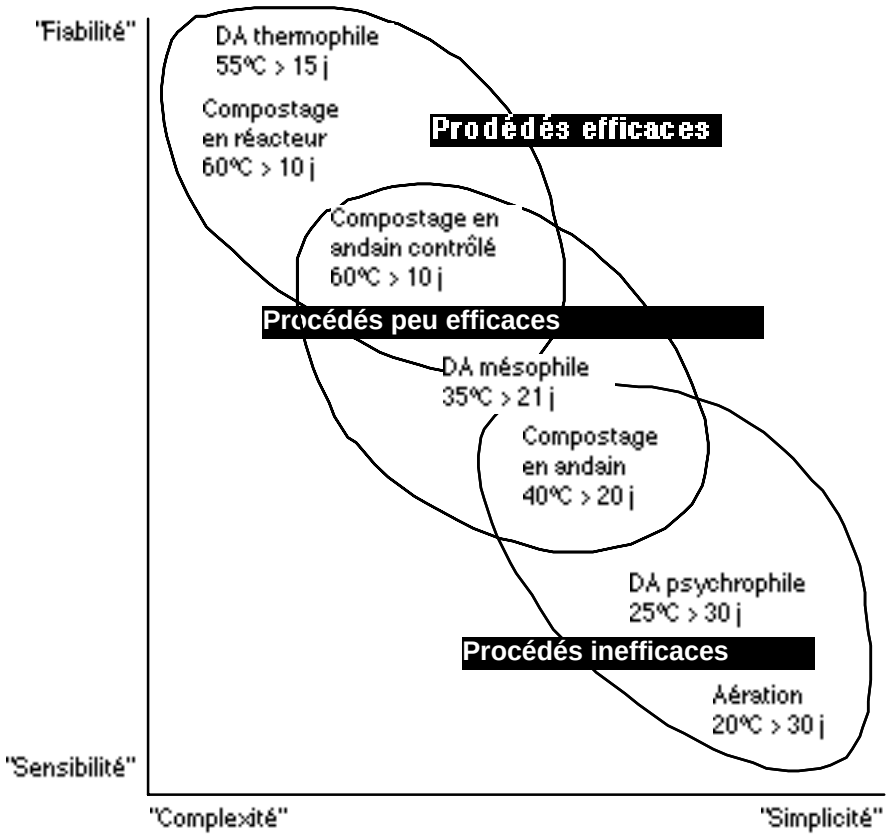
Ces conditions déterminent, au moins en partie, les différences entre les résultats obtenus en laboratoire et les résultats de terrain. Elles doivent également être prises en compte lors de la comparaison de deux procédés.

Nous avons cherché à situer la digestion anaérobie par rapport aux procédés aérobie, du point de vue de la réduction des germes pathogènes, selon différents critères :

- le taux de réduction (« efficace », « moyennement efficace », « peu efficace ») ;
- la simplicité ou la complexité du procédé (contraintes de mise en œuvre, technicité, coût…) ;
- la fiabilité ou la sensibilité aux conditions d'exploitations réelles.

Cette vision, synthétisée dans le graphique suivant, est probablement simplificatrice (la nature des substrats devrait aussi intervenir, de même que la taille de l'installation, etc…), mais elle a pour mérite selon nous de proposer une grille de lecture des procédés, non seulement en fonction de leurs performances théoriques, mais également de leurs conditions de mise en œuvre.

Selon cette grille de lecture, la digestion mésophile est plus proche du compostage en andains contrôlés à 60°C, que du compostage simple à 40°C (cas d'installations de co-compostage à la ferme de lisiers et déchets verts, par exemple).



3.3.2. Traitements hygiénisants complémentaires

Le choix d'une filière « hygiénisante » repose à la fois sur la technique de traitement mise en œuvre mais également sur les pratiques d'utilisation des produits après traitement. Il s'agit notamment des possibilités de recroissances lors du stockage et des pratiques d'épandage.

Concernant les possibilités de recroissance, la fermentation méthanique par son activité biologique permet :

- d'assurer un développement important d'une flore intervenant dans la biodégration de la matière organique présente et permettant ainsi une diminution des recroissances par antagonismes biologiques (compétition, prédation,…) ;
- de diminuer la teneur en matière organique facilement accessible et donc diminuer le principale source de nutriments des bactéries pathogènes capables de recroissance.

Par ailleurs, il est certain que les pratiques d'épandage jouent un rôle direct et extrêmement important dans la diffusion et le transfert de germes pathogènes éventuellement résistants vers le milieu récepteur. La mise en place d'une filière « hygiénisante » demande à ce que ces éléments soient contrôlés et que les règles en matière d'épandage soient respectées.

La méthanisation, sous certaines conditions de mise en œuvre, permet à elle seule d'obtenir de bonnes performances sur la réduction d'agents pathogènes. Sa combinaison avec d'autres techniques de traitement permet d'assurer le choix d'une filière « hygiénisante » reposant sur une réduction bonne ou excellente de la charge initiale en pathogènes.

Les autres techniques de traitement classiquement employées pour assurer un effet hygiénisant plus ou moins poussé peuvent trouver une complémentarité avec la méthanisation.

Il s'agit notamment des traitements physico-chimiques suivants :

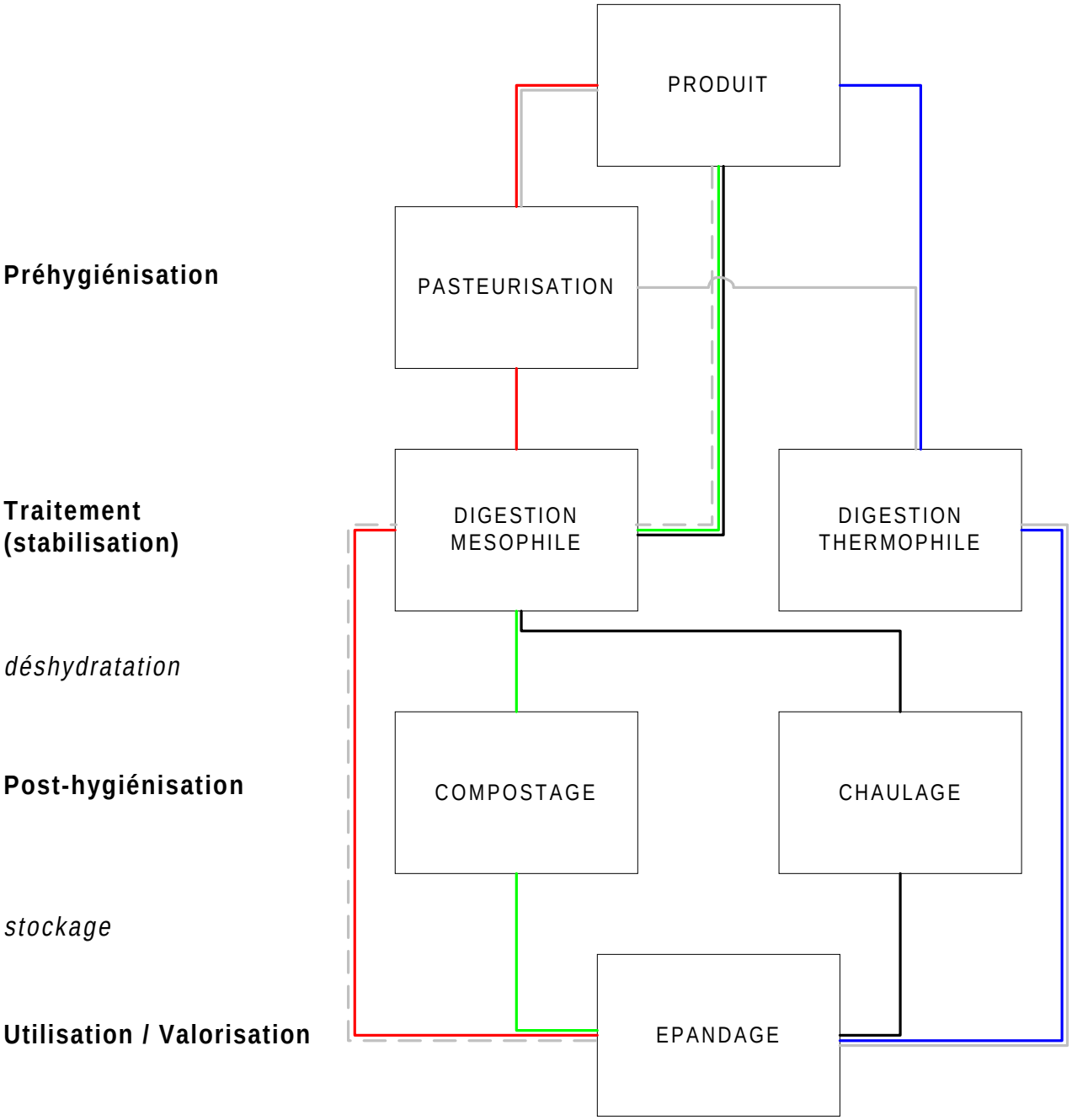
- Pasteurisation : il s'agit d'un chauffage du produit avant introduction dans le fermenteur à une température d'environ 80°C pendant une période courte (3 heures). Ce traitement a pour objectif de réduire la charge en organismes pathogènes initiale. Cette possibilité de pré-traitement est d'autant plus intéressante dans un souci de maîtrise des germes pathogènes que l'énergie nécessaire est directement disponible grâce à la production de biogaz du système.
- Chaulage : il s'agit d'une technique particulière de conditionnement des produits issus de la digestion qui peut jouer sur deux facteurs selon la chaux utilisée (vive ou éteinte) : la montée en température et l'augmentation du pH. Le chaulage peut donc avoir un effet complémentaire hygiénisant au niveau du produit digéré.
- Conditionnement thermique : le séchage thermique, qui assure également une hygiénisation des produits, est facilité sur le plan technico-économique du fait de la disponibilité en énergie.

Concernant le chaulage, par exemple, l'étude bibliographique de Furet (1997) indique que l'effet hygiénisant est lié directement à l'élévation de température et de pH. Ces facteurs étant eux-mêmes – pour une dose de chaux donnée – essentiellement liés à la teneur en eau.

Selon Marcinkowski (1985, cité par Furet), les boues anaérobies demandent – à siccité égale – 30% de chaux en moins que des boues aérobies pour obtenir le même effet hygiénisant sur les bactéries.

La digestion anaérobie assure une réduction la quantité de matière sèche (- 30% pour des boues urbaines mixtes par exemple) et facilite la déshydratation des boues (diminution du caractère colloïdal) : avec le même équipement et les mêmes conditions opératoires, la siccité des boues digérées déshydratées est supérieure à celle des boues non digérées déshydratées. Au final, la digestion anaérobie permet de diviser par deux la quantité de chaux nécessaire, par rapport à des boues mixtes brutes. De plus, ces boues sont plus aisément mélangeables avec la chaux. Ces éléments jouent sur des considérations d'ordre technique et économique, qui contribuent à la fiabilisation de l'ensemble de la chaîne de traitement, et à la garantie de performances pérennes.

La recherche d'une complémentarité entre les techniques est une garantie d'une meilleure maîtrise de la réduction des germes pathogènes. A titre d'exemples, le schéma ci-après propose quelques possibilités de combinaisons destinées à assurer un meilleur contrôle de l'hygiénisation. Ces exemples de sont pas exhaustifs et il existe bien sur d'autres possibilités ou combinaisons envisageables.


PRODUIT
Préhygiénisation
PASTEURISATION
Traitement (stabilisation)
DIGESTION MESOPHILE
DIGESTION THERMOPHILE
déshydratation
Post-hygiénisation
COMPOSTAGE
CHAULAGE
stockage
Utilisation / Valorisation
EPANDAGE

4. Synthèse et conclusion

4.1. ATOUTS & CONTRAINTES DE LA DIGESTION ANAEROBIE

On peut identifier plusieurs atouts fondamentaux spécifiques de la digestion anaérobie, du point de vue sanitaire :

- la **puissance des mécanismes biologiques** en jeu, qui assurent un taux de dégradation élevé de la matière organique, y compris de la matière organique synthétique (composés volatils) ;
- le fait de travailler en **réacteur fermé**, qui limite les risques d'exposition par inhalation et par contact cutané, et les risques de recontamination par les germes pathogènes ;
- les **conditions chimiques particulières** (anaérobiose, milieu réducteur, ammoniaque, hydrogène sulfuré…) qui interviennent directement dans les mécanismes chimiques (déhalogénation réductrice, précipitation de sulfures métalliques), ou indirectement en favorisant certains mécanismes biologiques ;
- la **disponibilité en énergie**, qui permet de réguler correctement les niveaux de température sans contraintes d'ordre économique ou météorologique, et constitue un facteur favorable pour la mise en œuvre de traitements complémentaires (pasteurisation préalable, séchage thermique).

La digestion anaérobie ne constitue pas une réponse en elle-même :

- au problème des métaux lourds, qui ne sont pas éliminés ;
- au problèmes des composés aromatiques polycycliques, faiblement dégradés par la digestion anaérobie.

Cependant, les HAP résiduels sont fixés au sein de la matière organique solide ou adsorbés à sa surface, avec une concentration très faible dans la phase liquide. De même, les micro-polluants métalliques sont contenus au sein de la matière organique solide, sous une forme non biodisponible.

En ce qui concerne la réduction des germes pathogènes, on distingue les différentes technologies de digestion anaérobie en fonction du niveau de température. Les appellations « thermophile » et « mésophile » sont cependant insuffisantes pour caractériser un mode de digestion, et il convient de préciser le couple température – temps de rétention, et si possible le temps de rétention minimal garanti.

La digestion thermophile (55°C, >15 jours) est capable d'assurer l'hygiénisation des produits traités : les souches thermo-résistantes sont principalement des bactéries sporulées de type Clostridium ou Bacillus aureus, ubiquites dans l'environnement. La digestion mésophile par contre, n'offre qu'un taux d'abattement de l'ordre de 90 à 99%, insuffisant pour prévenir le développement ultérieur des bactéries lors du stockage. Sauf dans le cas de produits peu contaminés à l'origine, la digestion mésophile doit donc être complétée soit par une pasteurisation préalable, soit par des post-traitements.

La digestion mésophile est probablement de loin le mode le plus utilisé aujourd'hui en Europe.

C'est le cas notamment de la totalité (à notre connaissance) des installations de digestion des boues urbaines en France. Certaines de ces installations – souvent parmi les plus anciennes – travaillent même en mode psychrophile.

C'est le cas également de nombreuses installations de traitement des effluents industriels, qui travaillent à la température des procédés industriels dont proviennent ces effluents (de l'ordre de 20 à 30°C). Cependant, ces effluents contiennent en principe peu de germes pathogènes (boues papetières…) et l'effet hygiénisant n'est pas recherché.

Plusieurs exceptions notables à cette situation doivent être signalées :

- La méthanisation des déchets municipaux, où le mode thermophile et le mode mésophile sont utilisés à égalité. Pour la plupart des installations, le digestat fait l'objet d'un post-compostage, souvent par mélange avec des déchets verts.
- La co-digestion des lisiers et déchets organiques au Danemark, avec un même nombre d'unités thermophiles et mésophiles. Pour ces dernières installations, la digestion est le plus souvent précédée d'une pasteurisation à 70°C.

Des procédures doivent être mises en place pour gérer les risques résiduels :

- contrôler la nature des substrats admis en digestion anaérobie : teneur en métaux lourds, hydrocarbures aromatiques polycycliques, pathogènes thermo-résistants ;
- déterminer des indicateurs d'efficacité (pathogènes, HAP) ;
- garantir un couple température / temps de séjour minimum compatible avec les exigences de réduction des agents de danger ;
- compléter - si nécessaire - l'étape de digestion anaérobie par des pré-traitements ou des post-traitements complémentaires : pH, pasteurisation, déshydratation…

Ces procédures sont partiellement préconisées ou mises en œuvre aujourd'hui par les constructeurs et les exploitants d'installations de digestion. Si les risques liés aux gaz (incendie et explosion, toxicité de H_2S) sont assez correctement appréhendés, de même – mais dans une moindre mesure – que les risques sanitaires encourus par les personnels, on constate une différence d'attitude notable en ce qui concerne la qualité sanitaire du digestat.

Pour certains constructeurs, l'hygiénisation est un facteur essentiel, y compris d'ordre commercial, tandis que pour d'autres, il s'agit plutôt d'une contrainte imposée par des normes et réglementations. L'origine géographique des constructeurs joue un rôle évident (Allemagne, Suisse et Europe du Nord ayant intégré cette problématique de façon plus importante).

La digestion anaérobie constitue donc un outil performant de la gestion de la matière organique. Elle se situe en concurrence, mais aussi en complémentarité, avec d'autres outils de traitement (traitement aérobie, chaulage…).

Les procédés anaérobies présentent des performances assez similaires aux procédés aérobie pour l'élimination des germes pathogènes, à conditions opératoires équivalentes. Les conditions chimiques particulières à la digestion anaérobie lui confèrent une efficacité supérieure pour la dégradation de certains composés organiques volatils (notamment la déhalogénation, par exemple, des pesticides), bien que pour d'autres composés les procédés aérobies semblent plus appropriés.

D'autre part, le fait de disposer d'une source d'énergie qui ne dépend pas de façon instantanée du process de biodégradation lui-même, comme c'est le cas des procédés aérobies (compostage, aération), constitue un atout majeur de fiabilisation du procédé. Outre les performances théoriques de chaque procédé, les conditions de mise en œuvre déterminent largement les performances réelles, et la faible sensibilité de la digestion anaérobie aux conditions météorologiques, de même que les possibilités d'automatisation des chaînes de régulation, constituent autant d'atouts pour cette technologie.

Le couplage de procédés anaérobies / aérobies semble capable d'assurer des performances sensiblement supérieures à chacun des procédés pris individuellement. Ainsi, les produits de dégradation anaérobie de certains COV peuvent être à leur tour dégradés par voie aérobie. Il semble qu'un nombre croissant d'installations industrielles adopte le principe d'un post-traitement aérobie – c'est le cas notamment du traitement des déchets fermentescibles municipaux.

4.2. ZONES D'OMBRES ET PISTES DE RECHERCHE

Plusieurs points restent mal précisés ou mal connus. Certains sont d'ordre général et déjà largement commentés par différents auteurs :

- la mesure des germes pathogènes reste sujette à différentes incertitudes, renforcées dans le cas de la digestion anaérobie par la difficulté d'isoler les souches anaérobies ;
- la notion de teneur en métaux lourds ne prend pas en compte la spéciation des métaux.

D'autres lacunes proviennent des constats que nous pouvons tirer de cette recherche documentaire.

L'annexe 1 présente la répartition des sources documentaires selon le thème étudié.

Une importante difficulté d'appréciation provient de l'absence de références claires dans le cas de certains travaux : quel type de substrat ? Quel type d'expérimentation (laboratoire ou site industriel) ? Quel type de digesteur (infinimement mélangé, piston, à lit fixe ou lit de boues…) ? Quelle température ? Quel temps de séjour – et surtout quel temps minimum de séjour ? Quel mode d'alimentation (batch, séquentiel, continu) ? Quel type d'agent (indigène, de culture…) ?

➔ **les données documentaires doivent indiquer l'ensemble des paramètres opératoires.**

Les travaux menés en laboratoire sont nombreux. Cependant, différents auteurs indiquent que ces expérimentations ne sont pas pleinement représentatives de fonctionnements réels. Par exemple, les souches pathogènes ajoutées aux pilotes de laboratoire sont moins résistantes que les souches « indigènes ». Ceux-ci ont en effet probablement développé des mécanismes d'adaptation au milieu qu'il est difficile de reproduire en laboratoire. D'autre part, nombre de travaux de laboratoire portent sur des expérimentations « batch », différentes des modes d'exploitation industriels, séquentiels ou plus souvent continus.

La recherche documentaire n'a pas permis d'identifier suffisamment de données concordantes pour plusieurs types de produits (fraction fermentescible des déchets municipaux, effluents industriels, voire boues d'épuration…).

➔ **privilégier les mesures réalisées sur sites industriels, notamment sur les nouvelles applications de la digestion anaérobie (déchets organiques municipaux).**

L'hydrodynamique des digesteurs est rarement évoquée. Il s'agit cependant d'un paramètre fondamental, dans la mesure où il conditionne largement l'écart entre le temps de séjour moyen (paramètre moins accessible) et le temps de séjour minimal. Le fonctionnement des digesteurs « infiniment mélangés » et de type « piston » est nécessairement très différent du point de vue sanitaire.

On peut cependant imaginer différentes solutions pour contrôler le temps minimum de séjour : l'alimentation séquentielle quotidienne permet par exemple de garantir un TMRG de 24 heures. Le fait de disposer de plusieurs digesteurs permet également de garantir une durée minimale. Des techniques de traçage peuvent aussi être utilisées, de même que des outils de modélisation numérique hydrodynamiques.

➔ **mettre en œuvre des solutions de contrôle du temps minimal de séjour garanti.**

4.3. CONCLUSION

La digestion anaérobie est un outil de traitement des déchets et sous-produits organiques appliquée à de nombreux types de substrats, le plus souvent en vue de leur recyclage agricole. L'une des questions clé dans la problématique du recyclage de ces produits, porte sur le devenir des micro-polluants (germes pathogènes, métaux, micro-polluants organiques). De nombreux travaux de recherche sont menés, en Europe du Nord notamment, autour des nouvelles installations de digestion des lisiers ou des déchets municipaux organiques, qui renouvellent les connaissances sur le sujet.

La recherche documentaire présentée ici s'appuie sur plus de 300 articles traitant de cette question.

La digestion anaérobie est capable d'assurer un taux de dégradation élevé de la matière organique, y compris de la matière organique synthétique, bien que certains hydrocarbures polycycliques s'avèrent résistants. Les mécanismes en jeu sont d'ordre biologique, mais également chimique, la nature réductrice du milieu permettant les réactions de déhalogénation.

Dans les conditions chimiques de la digestion anaérobie, les micro-polluants organiques résiduels sont fixés en quasi totalité au sein de la matière solide, de même que les métaux lourds, sous une forme non biodisponible.

En particulier, le fait de travailler en réacteur fermé limite les risques d'exposition par inhalation et par contact cutané, principaux risques auxquels sont exposés les personnels des unités de traitement. Enfin, la disponibilité en énergie offre des atouts majeurs en terme de contrôle, fiabilité et garantie, et facilite la mise en œuvre de traitements thermiques (pasteurisation, séchage).

La digestion thermophile est un procédé hygiénisant du point de vue des germes pathogènes, à la différence des procédés mésophiles, qui doivent alors s'appliquer soit à des produits non contaminés, soit être complétés par des traitements hygiénisants (compostage, chaulage, séchage…), avec lesquels la digestion se situe plutôt en complémentarité qu'en concurrence. Le couplage de procédés anaérobie et aérobie, par exemple, est souvent mis en œuvre sur les installations de traitement des déchets organiques municipaux.

Les risques pris en compte aujourd'hui par les constructeurs et exploitants portent surtout sur les dangers liés aux gaz de fermentation. Peu d'attention a été portée jusqu'à présent en France à la problématique de l'hygiénisation, à la différence de la situation qui prévaut en Europe du Nord.

Plusieurs points restent mal précisés ou mal connus. Les données bibliographiques restent parfois insuffisamment précises. Il serait nécessaire de préciser l'ensemble des paramètres opératoires, de multiplier les résultats issus d'installations industrielles. Certaines notions fondamentales, comme le temps de séjour minimum garanti, méritent également une attention particulière.

SOMMAIRE DETAILLE

1. CONTEXTE, CADRE ET RAPPELS 6

1.1. OBJET DE L'ETUDE 7
1.2. MODE D'EMPLOI DU RAPPORT 8
1.3. DEFINITION DU CHAMPS D'ETUDE 10
1.3.1. Définition des termes employés 10
1.3.2. Notion de déchets et sous-produits 10
1.3.3. Les déjections d'élevage 11
1.3.4. Les boues des stations d'épuration municipales 11
1.3.5. Déchets organiques municipaux 11
1.3.6. Déchets et sous-produits organiques des entreprises 12
1.3.7. Effluents industriels 12
1.4. RÔLE ET CHAMPS D'APPLICATION DE LA MÉTHANISATION 14
1.4.1. Applications et état de développement 14
1.4.1.1. Boues de stations d'épuration urbaines 14
1.4.1.2. Déjections d'élevage 15
1.4.1.3. Effluents industriels 16
1.4.1.4. Déchets municipaux solides et assimilés 16
1.4.2. Les procédés de méthanisation en réacteur 17
1.5. ASPECTS RÉGLEMENTAIRES 18
1.5.1. Le compost (Norme NFU 44051) 18
1.5.2. La procédure d'homologation 19
1.5.3. L'épandage des boues 21
1.5.4. La protection des travailleurs en station de traitement des eaux usée (recommandations de la CNAM) 24
1.5.4.1. Prévention des risques pathologiques et toxicologiques 24
1.5.4.2. Risques d'incendie et d'explosion 24
1.5.4.3. Mesures de prévention concernant le personnel 25
1.5.4.4. Commentaires 26
1.5.5. Tableau récapitulatif 27
1.6. DESCRIPTION DES PROCESSUS BIO-PHYSICO-CHIMIQUES DE LA MÉTHANISATION 28
1.6.1. Schéma général de la digestion anaérobie 28
1.6.2. Les étapes métaboliques 29
1.6.2.1. Hydrolyse et acidogénèse 29
1.6.2.2. Acétogènèse 30
1.6.2.3. Méthanogènèse 31
1.6.3. L'enzymologie particulière des méthanogènes 31
1.6.3.1. Des cofacteurs spéciaux 31
1.6.3.2. Des armes pour la dépollution 32
1.6.4. Les paramètres influençant la fermentation méthanique 33
1.6.4.1. La température 33
1.6.4.2. Le potentiel Red_Ox 34
1.6.4.3. Le pH et les équilibres tampons 34
1.6.4.4. La pression partielle en hydrogène 35
1.6.4.5. Les besoins en nutriments 36
1.6.4.6. Les inhibiteurs 36
1.6.4.7. Les autres paramètres 36

2. ANALYSE DOCUMENTAIRE 37

2.1. ETAT DES CONNAISSANCES 38
2.2. ACTIONS SUR LES PATHOGÈNES 39
2.2.1. Méthodologie 39
2.2.1.1. Les sources documentaires 39
2.2.1.2. Types de résultats 40
2.2.1.3. Difficultés d'étude de l'impact de la digestion anaérobie sur les pathogènes 40
2.2.2. Synthèse sur le devenir des agents pathogènes 42
2.2.2.1. Résultats de l'étude bibliographique 42

2.2.2.2. Les facteurs de réduction des pathogènes ... 42
2.2.2.3. Température, temps de séjour et taux d'élimination ... 43
2.2.2.4. Les germes résistants ... 44
2.2.3. Indicateurs de l'effet réducteur de la digestion anaérobie ... 45
2.2.3.1. Streptocoques et coliformes ... 45
2.2.3.2. Les virus ... 45
2.2.4. Les problèmes qui peuvent être rencontrés lors de la digestion anaérobie ... 46
2.2.4.1. Problèmes liés aux antibiotiques, additifs et désinfectants ... 46
2.2.4.2. Les autres sortes de problèmes ... 47
2.2.5. Recommandations ... 48
2.2.5.1. Classement des déchets ... 48
2.2.5.2. Conditions d'hygiénisation ... 49
2.2.5.3. Efficacité de la pasteurisation ... 49
2.3. ACTIONS SUR LES PHYTOPATHOGÈNES ... 50
2.4. ACTIONS SUR LES ÉLÉMENTS TRACES MÉTALLIQUES ... 51
2.4.1. Biodisponibilité des métaux et déroulement des réactions de fermentation ... 51
2.4.1.1. Comportement en conditions anaérobies ... 51
2.4.1.2. Rôles des micropolluants métalliques en digestion anaérobie ... 52
2.4.2. Devenir des micropolluants métalliques en digestion anaérobie ... 55
2.4.2.1. Mécanismes extracellulaires d'enlèvement des métaux : ... 55
2.4.2.2. Mécanismes intracellulaires d'enlèvement des métaux : ... 56
2.4.3. Répartition des métaux en sortie de digesteur ... 57
2.4.4. Synthèse sur le devenir des éléments traces métalliques ... 58
2.5. ACTIONS SUR LES MICROPOLLUANTS ORGANIQUES ... 60
2.5.1. Conditions expérimentales d'étude ... 60
2.5.2. Risques d'inhibition de la fermentation ... 61
2.5.3. Devenir des micropolluants organiques en méthanisation ... 62
2.5.3.1. Cas des composés aliphatiques ... 62
2.5.3.2. Cas des composés aromatiques monocycliques ... 63
2.5.3.3. Cas des composés aromatiques polycycliques ... 65
2.5.4. Efficacité de dégradation en milieu aérobie ... 69
2.5.5. Récapitulatif des données ... 69
2.5.6. Synthèse sur le devenir des micropolluants organiques ... 70
2.6. SYNTHÈSE ... 72
2.6.1. Devenir des agents de danger ... 72
2.6.1.1. Germes pathogènes ... 72
2.6.1.2. Micro-polluants métalliques ... 72
2.6.1.3. Micro-polluants organiques ... 73
2.6.2. Les facteurs mis en jeu ... 73
2.6.2.1. Temps de séjour et temps minimal ... 73
2.6.2.2. Température ... 74
2.6.2.3. Autres facteurs ... 74

3. MISE EN ŒUVRE DES PROCÉDÉS ET DEVENIR DES ÉLÉMENTS DE DANGER ... 75

3.1. INTERNALISATION DES ASPECTS SANITAIRES DANS LES INSTALLATIONS DE MÉTHANISATION ... 76
3.1.1. Prise en compte de la présence de gaz de fermentation ... 76
3.1.2. Prise en compte de la présence de germes pathogènes et de micropolluants organiques et métalliques dans les déchets 77
3.1.3. Synthèse de la prise en compte des éléments de danger (Gaz, agents pathogènes et micropolluants) par les Industriels de la méthanisation ... 80
3.2. ELÉMENTS DE COMPARAISON ANAÉROBIE / AÉROBIE SUR LE DEVENIR DES ÉLÉMENTS DE DANGER ... 81
3.2.1. La réduction des germes pathogènes ... 81
3.2.1.1. Notions élémentaires sur le traitement de la matière organique et les effets hygiénisant par voie aérobie ... 81
3.2.1.2. Eléments de comparaison des effets hygiénisant selon la voie biologique utilisée ... 83
3.2.2. La dégradation des micro-polluants organiques ... 84
3.2.3. Le devenir des micro-polluants métalliques ... 85
3.3. MISE EN ŒUVRE DES PROCÉDÉS ... 86
3.3.1. Performances théoriques et conditions de mise en œuvre ... 86
3.3.2. Traitements hygiénisants complémentaires ... 87

4. SYNTHÈSE ET CONCLUSION 90

4.1. ATOUTS & CONTRAINTES DE LA DIGESTION ANAEROBIE 91
4.2. ZONES D'OMBRES ET PISTES DE RECHERCHE 94
4.3. CONCLUSION 95

BIBLIOGRAPHIE

ANNEXES :

Annexe 1 : Répartition des références bibliographiques par thème étudié.

Annexe 2 : Rappel sur les agents de risque sanitaire et leur toxicité.

Annexe 3 : Rappel sur les risques microbiologiques encourus par les travailleurs en station de traitement des eaux usées.

Annexe 4 : Résultats de l'étude bibliographique sur le devenir des agents pathogènes (bactéries, virus, parasites) en digestion anaérobie.

Annexe 5 : Tableau récapitulatif du devenir des micropolluants organiques en méthanisation.

Annexe 6 : Questionnaires destinés aux industriels (constructeurs et exploitants).

Annexe 7 : Liste des industriels contactés.